



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

RASTREIO PARASITOLÓGICO EM AVES SELVAGENS INGRESSADAS NO CENTRO
DE RECUPERAÇÃO E INVESTIGAÇÃO DE ANIMAIS SELVAGENS DA RIA
FORMOSA

NINA VANESSA AFONSO ZACARIAS

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Doutor Jorge Manuel de Jesus Correia

ORIENTADOR

Dr. Hugo Alexandre Romão de Castro Lopes

COORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2017

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

RASTREIO PARASITOLÓGICO EM AVES SELVAGENS INGRESSADAS NO CENTRO
DE RECUPERAÇÃO E INVESTIGAÇÃO DE ANIMAIS SELVAGENS DA RIA
FORMOSA

NINA VANESSA AFONSO ZACARIAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Doutor Jorge Manuel de Jesus Correia

ORIENTADOR

Dr. Hugo Alexandre Romão de Castro Lopes

COORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2017

LISBOA

PERSEVERA, PER SEVERA,

PER SE VERA.

Agradecimentos

Ao Orientador Dr. Hugo Alexandre Romão de Castro Lopes. Pela transmissão de conhecimentos e por me ter proporcionado um enriquecimento a nível profissional e pessoal.

Ao Co-Orientador Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho. Pela compreensão, pelo apoio, pela grande sabedoria e (bom) humor singular. Por ter sido essencial na conclusão do mestrado.

À equipa do RIAS. Pela paciência com que me ajudaram na recolha de amostras e me transmitiram saberes. Em especial à Fábria Azevedo pelo espírito alegre, honesto e pelos bons momentos de convívio.

À Dr^a. Lídia Gomes. Por se mostrar sempre disponível para receber, ensinar e ajudar.

Ao Professor Telmo Nunes. Por me ter ajudado neste trabalho, com boa disposição.

Ao Tiago Paraíso. Por ter sido uma boa ajuda na estatística.

Ao Juan Pérez-García, à Carolina Chagas e ao Egor Vlasov. Pela boa documentação facultada.

Ao Élvio. Pela disponibilidade e auxílio precioso quando mais precisei.

Aos meus amigos de cá: ao João Corça, ao Élvio, à Marta, à Francesca, ao João Mota e à Ana. Por me fazerem sentir em casa e cada um me ter enriquecido com a sua experiência.

Aos meus amigos de lá: à Leila, à Nadine, à Pancinha, ao Ivo e à Rita. Porque me ajudaram, cada um à sua maneira, a percorrer o caminho com simplicidade e alegria. Em especial à Leila, pela amizade de sempre.

À Liliana. Pelas reflexões e pela empatia. Por me receber sempre de braços abertos, nos bons e maus momentos, com um café quente e um sorriso.

Ao Mike. Pela amizade e cumplicidade. Por me acolher como família.

À Ana Maria. Pela hospitalidade, de casa e de coração.

À Manela. Por confiar cegamente e abraçar a minha essência.

À Paula Sousa. Pela imensa sensibilidade, pelo respeito, pela persistência. Pelos sábios ensinamentos e por ser uma grande mentora. Por me ensinar que Ítaca não é um destino, mas uma viagem dolorosamente boa e enriquecedora.

À Karina. Pelo apoio incondicional, pela companhia de valor incalculável. Por ter sido uma das pessoas mais importantes nesta etapa. Por me inspirar a ser uma pessoa melhor.

Aos meus irmãos. Porque fazem parte de mim e sempre me apoiaram.

Aos meus pais. Especialmente aos meus pais. Por todo o amor, pela paciência, pelo afecto e compreensão. Por serem exemplo de bons valores. Por acreditarem. Porque sem eles não seria possível.

Resumo

Rastreio Parasitológico em Aves Selvagens Ingressadas no Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa

Nos últimos tempos a parasitologia tem explorado mais amiúde o espaço selvagem, inclusivamente as aves, que têm sido motivo de vários estudos recentes, nomeadamente em Portugal. No entanto, existe ainda um longo caminho a fazer e pretende-se que estudos idênticos a este sejam alavancas para trabalhos mais complexos no sentido do conhecimento e preservação de populações animais e respetivos ambientes.

Durante o período compreendido entre Maio e Outubro de 2012 foi realizado um rastreio parasitológico em aves selvagens ingressadas no Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa (RIAS). Foram utilizadas três metodologias, de forma a pesquisar parasitas distintos, sendo que cada método foi aplicado a uma população amostral diferente: 75 amostras de fezes para pesquisa de ovos/oocistos através do método de flutuação; 52 esfregaços fecais para pesquisa de *Cryptosporidium* e *Giardia* e 53 esfregaços sanguíneos para hemoparasitas. Ocorreu uma prevalência total de parasitismo de 22%. Na coprologia por flutuação obteve-se 24% de amostras positivas e os parasitas encontrados foram: cestodes, ascarídeos, capilarídeos e coccídias. Nos esfregaços fecais os resultados positivos indicaram a presença de *Cryptosporidium* e *Giardia* em 1,9% das amostras, para cada parasita. Surgiu uma prevalência de 22,6% para hemoparasitas nas amostras sanguíneas nas quais foram identificados os géneros *Leucocytozoon*, *Haemoproteus* e *Plasmodium*. As aves foram agrupadas mediante a morfologia e/ou habitat preferencial: rapinas, estepárias, aquáticas, marinhas e Passeriformes. As aves estepárias (44,4%) e as rapinas (32,1%) foram as que apresentaram maior prevalência parasitária, sendo que as rapinas representaram o maior número de amostras parasitadas na totalidade dos resultados positivos. As espécies mais parasitadas foram a estepária *Falco naumanni* (peneireiro-das-torres) e a rapina noturna *Athene noctua* (mocho-galego). Os outros indivíduos parasitados pertenciam às espécies: *Tyto alba* (coruja-das-torres), *Anas platyrhynchos* (pato-real), *Gallinula chloropus* (galinha-d'água), *Larus fuscus* (gaivota-d'asa-escura), *Turdus merula* (melro-preto), *Streptopelia turtur* (rola-brava), *Asio flammeus* (coruja-do-nabal), *Bubo bubo* (bufo-real), *Strix aluco* (coruja-do-mato), *Buteo buteo* (águia-d'asa-redonda) e *Larus michahellis* (gaivota-de-patas-amarelas).

Este trabalho contribuiu para um melhor e mais alargado conhecimento da parasitofauna portuguesa em ambiente selvagem.

Palavras-chave: Aves selvagens; Helminthes; Coccídias; *Cryptosporidium*; *Giardia*; Hemoparasitas; Centro de Recuperação; Portugal.

Abstract

Parasitological Survey on Wild Birds from a Wildlife Rehabilitation and Investigation Centre in Ria Formosa, Portugal

Parasitology researchers have frequently assessed wildlife and wild birds have been subject of some recent studies, including in Portugal. However, there is still a long way to go and it is intended that this kind of studies could encourage more complex work for knowledge and conservation of wild populations and their environments.

Between May and October 2012, a parasitological survey was performed on wild birds at Ria Formosa Wild Animals Rehabilitation and Investigation Centre (RIAS) in Portugal. Three methodologies were used in order to analyze different types of parasites: 75 fecal samples were collected for the flotation technique; 52 fecal smears for *Cryptosporidium* and *Giardia* investigation and 53 blood smears for haemoparasites research. With an overall 22% parasitism prevalence, the flotation technique presented 24% positive samples and the observed parasites were: cestodes, capillarid nematodes, ascaridoid nematodes and coccidia. The faecal smears revealed positive results for *Cryptosporidium* and *Giardia* in 1,9% of samples, for each parasite. Blood smears exhibited 22,6% prevalence for haemoparasites and three genus were identified: *Leucocytozoon*, *Haemoproteus* and *Plasmodium*. Birds were grouped according to their morphology and/or preferential habitat: birds of prey, steppe birds, waterfowl, seabirds and Passeriformes. The steppe birds (44,4%), followed by birds of prey (32,1%), were the most parasitized groups, even though birds of prey contained the largest number of parasitized samples in total positive results. The most parasitized species were the steppe bird *Falco naumanni* (lesser kestrel) and the nocturnal bird of prey *Athene noctua* (little owl). Other individuals who presented parasitism belonged to species: *Tyto alba* (barn owl), *Anas platyrhynchos* (common mallard), *Gallinula chloropus* (common moorhen), *Larus fuscus* (lesser black-backed gull), *Turdus merula* (eurasian blackbird), *Streptopelia turtur* (european turtle dove) *Asio flammeus* (short-eared owl), *Bubo bubo* (eurasian eagle-owl), *Strix aluco* (tawny owl), *Buteo buteo* (common buzzard) e *Larus michahellis* (yellow-legged gull).

This research contributed for a better and broader knowledge of portuguese wildlife parasite fauna.

Key-words: Wild birds; Helminths; Coccidia; *Cryptosporidium*; *Giardia*; Blood parasites; Rehabilitation Centre; Portugal.

Índice Geral

Índice de figuras	vi
Índice de tabelas	vii
Índice de gráficos	viii
Lista de abreviaturas de símbolos.....	xi
I. Estágio curricular	xi
1. RIAS (Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa)	1
1.1. Clínica	1
1.2. Laboratório.....	2
1.3. Trabalhos de campo	2
2. Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV – ULisboa.....	2
3. Actividades extra-estágio curricular.....	3
II. Introdução.....	3
III. Revisão Bibliográfica	4
1. Ecologia das Aves Selvagens.....	4
1.1. Rapinas.....	4
1.2. Marinhas	5
1.3. Aquáticas	7
1.4. Estepárias	9
1.5. Passeriformes	10
2. Parasitas Gastrintestinais	10
2.1. Cestodes	10
2.1.1. Distribuição e Hospedeiros	11
2.1.2. Ciclo de vida	12
2.1.3. Sinais clínicos	13
2.1.4. Tratamento e Controlo	13
2.2. Nematodes	14
2.2.1. Ascarídeos	14
2.2.1.1. Distribuição e Hospedeiros	14
2.2.1.2. Ciclo de vida	14
2.2.1.3. Sinais clínicos.....	15
2.2.1.4. Tratamento e Controlo	16
2.2.2. Capilarídeos.....	16
2.2.2.1. Distribuição e Hospedeiros	17
2.2.2.2. Ciclo de Vida.....	17
2.2.2.3. Sinais Clínicos.....	18
2.2.2.4. Tratamento e Controlo	18
2.3. Protozoários	19
2.3.1. Coccídias: Família Eimeriidae – <i>Isospora</i> , <i>Eimeria</i> e <i>Avispora</i> (syn. <i>Caryospora</i>)	19
2.3.1.1. Distribuição e Hospedeiros	21
2.3.1.2. Ciclo de vida	22
2.3.1.3. Sinais Clínicos.....	23
2.3.1.4. Tratamento e Controlo	24
2.3.2. <i>Cryptosporidium</i>	24
2.3.2.1. Distribuição e Hospedeiros	25

2.3.2.2. Ciclo de Vida.....	25
2.3.2.3. Sinais Clínicos.....	26
2.3.2.4. Tratamento e Controlo	27
2.3.3. <i>Giardia</i>	27
2.3.3.1. Distribuição e Hospedeiros	28
2.3.3.2. Ciclo de vida	28
2.3.3.3. Sinais clínicos.....	29
2.3.3.4. Tratamento e Controlo	29
3. Hemoparasitas Protozoários.....	30
3.1 Distribuição e Hospedeiros	31
3.2 Ciclo de Vida.....	31
3.3. Sinais Clínicos.....	33
3.4. Tratamento e Controlo	34
4. Impacto em populações selvagens.....	34
5. Saúde Pública – <i>Waterborne Zoonosis</i>	36
IV. Rastreio parasitológico em Aves selvagens no RIAS	37
1. Objetivos.....	37
2. Material e Métodos.....	37
2.1. Caracterização da amostra	37
2.2. Colheita e processamento das amostras	38
2.2.1 Colheita de fezes para exame coprológico	38
2.2.1.1. Processamento da amostra pelo método de flutuação - técnica de Willis.....	38
2.2.2 Realização de esfregaços fecais.....	38
2.2.2.1. Coloração pelo método de Ziehl-Neelsen	39
2.2.3 Colheita de sangue periférico	39
2.2.3.1 Preparação, fixação e coloração do esfregaço sanguíneo	40
2.3. Análise estatística	41
3. Resultados	41
3.1. Visão global - caracterização da amostra e do estudo.....	41
3.1.1. Grupos de aves e técnicas utilizadas.....	43
3.1.2. Grupo etário.....	44
3.1.3. Habitat	44
3.1.4. Estatuto fenológico	45
3.1.5. Causa de ingresso	45
3.2 Parasitismo geral.....	46
3.2.1. Grupos de Aves	46
3.2.2. Grupo etário.....	47
3.2.3. Habitat	48
3.2.5. Causa de ingresso	49
3.2.6. Técnicas	50
3.2.7. Clima	50
3.3. Análises coprológicas – Flutuação de Willis.....	51
3.3.1. Grupos de Aves	52
3.3.2. Grupo etário.....	53
3.3.3. Habitat	54
3.3.4. Estatuto fenológico	55
3.3.5. Causa de ingresso	55
3.3.6. Clima	56
3.3.7. Formas parasitárias observadas e prevalência.....	57
3.4. Pesquisa de <i>Cryptosporidium</i> sp. e <i>Giardia</i> sp. – Esfregaços fecais.....	60
3.4.1. Grupos de Aves	61

3.4.2. Grupo Etário	62
3.4.3. Habitat	63
3.4.4. Estatuto fenológico	64
3.4.5. Causa de ingresso	64
3.4.6. Clima	64
3.4.7. Protozoários observados e prevalências parasitárias	65
3.5. Pesquisa de Hemoparasitas – Esfregaços sanguíneos	66
3.5.1. Grupos de Aves	67
3.5.2. Grupo etário	68
3.5.3. Habitat	69
3.5.4. Estatuto fenológico	70
3.5.5. Causa de ingresso	71
3.5.6. Clima	71
3.5.7. Hemoparasitas observados e prevalências parasitárias	72
3.6. Associações parasitárias	74
4. Discussão	75
V. Conclusões	90
Bibliografia.....	94
Anexo I. Tabela referente aos dados obtidos durante a recolha e processamento das amostras.....	110
Anexo II. Protocolo de coloração Wright-Giemsa modificado por Samour (2006a)	116
Anexo III. Estatuto fenológico das aves em estudo, em Portugal Continental	117

Índice de figuras

Figura 1. Ciclo de vida dos hemosporídeos.	33
Figura 2. Representação das veias dos membros anterior e pélvico das aves, das quais se realizou a recolha de sangue para a execução dos esfregaços	40
Figura 3. Representação esquemática da técnica do esfregaço por escorregamento.	40
Figura 4. Observações microscópicas resultantes da análise coprológica pela técnica de willis	57
Figura 5. Observações microscópicas resultantes dos esfregaços fecais e coloração pelo método de Ziehl-Neelsen.	65
Figura 6. Observações microscópicas resultantes da pesquisa de hemoparasitas [x1000].	72

Índice de tabelas

Tabela 1. Prevalência de parasitismo global nos diferentes grupos de aves	46
Tabela 2. Prevalência de parasitismo em amostras fecais pelo método de flutuação de Willis, nos diferentes grupos de aves	52
Tabela 3. Prevalências de parasitismo para cada espécie de ave positiva e respectivos parasitas observados	59
Tabela 4. Associações parasitárias encontradas e respectivas espécies de hospedeiros	60
Tabela 5. Prevalência de parasitismo em amostras de esfregaços fecais, nos diferentes grupos de Aves	62
Tabela 6. Prevalências de parasitismo para cada espécie de ave positiva e respectivos protozoários observados nos esfregaços fecais	66
Tabela 7. Prevalência de parasitismo em amostras obtidas por esfregaço sanguíneo, nos diferentes grupos de aves	68
Tabela 8. Prevalências de hemoparasitas para cada espécie hospedeira e respectivas prevalências de parasitismo em cada espécie.	73
Tabela 9. Associações parasitárias encontradas e respectivas espécies de hospedeiros.....	74
Tabela 10. Associações parasitárias encontradas em aves analisadas para os diferentes métodos e respectivas espécies de hospedeiros.....	74

Índice de gráficos

Gráfico 1. Número de indivíduos analisados na globalidade do estudo, para cada espécie de Aves, por ordem alfabética descendente	42
Gráfico 2. Número de indivíduos analisados para cada método e dentro de cada grupo de Aves.	43
Gráfico 3. Percentagens de indivíduos analisados segundo o seu grupo etário. Do grupo “indeterminado” constam Aves em que não foi possível determinar a sua idade.	44
Gráfico 4. Percentagens de Aves analisadas segundo o seu habitat.	44
Gráfico 5. Percentagens de Aves analisadas consoante o seu estatuto fenológico em Portugal continental.....	45
Gráfico 6. Prevalências das causas de ingresso das Aves em estudo no RIAS.....	45
Gráfico 7. Prevalências de indivíduos parasitados em cada grupo de Aves relativamente ao total de resultados positivos ($n=29$)	47
Gráfico 8. Número de indivíduos negativos e positivos para cada grupo etário observado....	47
Gráfico 9. Percentagens de indivíduos positivos para parasitas segundo o grupo etário ($n=29$)	48
Gráfico 10. Número de indivíduos negativos e positivos para parasitas nos diferentes habitats.....	48
Gráfico 11. Percentagens de Aves positivas para parasitas no total do estudo, segundo o seu habitat ($n=29$).....	48
Gráfico 12. Prevalências de parasitismo de acordo com o estatuto fenológico ($n=29$).....	49
Gráfico 13. Percentagens das causas de ingresso de Aves positivas para parasitas ($n=29$)	49
Gráfico 14. Representação do número de amostras realizadas em cada técnica e respetivo número de amostras positivas.	50
Gráfico 15. Prevalências dos resultados positivos nas diferentes estações do ano durante o tempo em que decorreu o estudo	50
Gráfico 16. Número de indivíduos analisados pelo método de flutuação de Willis, para cada espécie de Aves, por ordem alfabética descendente	51
Gráfico 17. Prevalências de indivíduos parasitados em cada grupo de Aves relativamente ao total de resultados positivos ($n=18$).	53
Gráfico 18. Número de indivíduos negativos e positivos para cada grupo etário observado pelo método de flutuação.....	53
Gráfico 19. Percentagens de indivíduos positivos nas análises coprológicas, segundo o grupo etário ($n=18$).	54
Gráfico 20. Número de indivíduos negativos e positivos observados pelo método de flutuação nos diferentes habitats.....	54
Gráfico 21. Percentagens de indivíduos positivos consoante o habitat ($n=18$).	54
Gráfico 22. Prevalências de parasitismo de acordo com o estatuto fenológico.....	55
Gráfico 23. Percentagens das causas de ingresso de Aves positivas para parasitas pelo método de flutuação de Willis ($n=18$).	55
Gráfico 24. Prevalências dos resultados positivos para o método de flutuação de Willis, nas diferentes estações do ano, durante o tempo em que decorreu o estudo.....	56
Gráfico 25. Representação do número de amostras parasitadas em que ocorreu co-infecção e pseudoparasitismo.....	60
Gráfico 26. Prevalências dos diferentes ovos/oocistos de parasitas observados pelo método de flutuação de Willis no total das amostras positivas ($n=18$).	60
Gráfico 27. Número de indivíduos analisados, através de esfregaço fecal para pesquisa de <i>Cryptosporidium</i> e <i>Giardia</i> , para cada espécie de ave, por ordem alfabética descendente.	61
Gráfico 28. Prevalências de indivíduos parasitados em cada grupo de Aves relativamente ao total de resultados positivos ($n=2$).	62

Gráfico 29. Número de indivíduos negativos e positivos para cada grupo etário	63
Gráfico 30. Percentagens de resultados positivos nos dois grupos etários em que foram identificados parasitas.....	63
Gráfico 31. Número de indivíduos negativos e positivos com relação aos diferentes habitats.	63
Gráfico 32. Prevalências de parasitismo de acordo com o estatuto fenológico.....	64
Gráfico 33. Prevalências de amostras positivas nas diferentes estações do ano, durante o tempo em que decorreu o estudo.	65
Gráfico 34. Prevalências dos diferentes protozoários intestinais observados em esfregaços fecais, no total das amostras positivas ($n=2$)	66
Gráfico 35. Número de indivíduos analisados para pesquisa de hemoparasitas, para cada espécie de Aves, por ordem alfabética decendente.....	67
Gráfico 36. Prevalências de indivíduos parasitados em cada grupo de Aves relativamente ao total de resultados positivos ($n=12$).	68
Gráfico 37. Número de indivíduos positivos e negativos para hemoparasitas nos diferentes grupos etários.....	69
Gráfico 38. Percentagens de indivíduos positivos para hemoparasitas segundo o grupo etário ($n=12$).....	69
Gráfico 39. Número de indivíduos negativos e positivos para hemoparasitas nos diferentes habitats	70
Gráfico 40. Percentagens de Aves positivas para protozoários sanguíneos, segundo o seu habitat ($n=12$).....	70
Gráfico 41. Prevalências de parasitismo de acordo com o estatuto fenológico ($n=12$).....	70
Gráfico 42. Percentagens das causas de ingresso de Aves positivas para hemoparasitas ($n=12$).	71
Gráfico 43. Prevalências dos resultados positivos para parasitas assinalados em esfregaços sanguíneos, nas diferentes estações do ano, durante o tempo em que decorreu o estudo .	71
Gráfico 44. Prevalências dos diferentes géneros parasitários observados nas amostras de sangue positivas ($n=12$).	74

Lista de abreviaturas e símbolos

RIAS	Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa
ICNF	Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas
PNRF	Parque Natural da Ria Formosa
FMV-UL	Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa
sp.	Espécie
spp.	Espécies
%	Percentagem
µm	Micrómetros
mm	Milímetros
mL	Mililitros
®	Registada
>	Superior a
<	Inferior a
≤	Inferior ou igual a
<i>n</i>	Número observado
<i>p</i>	<i>p-value</i>
χ^2	Valor de <i>Qui-Quadrado</i>
HD	Hospedeiro(s) definitivo(s)
HI	Hospedeiro(s) intermediário(s)
HP	Hospedeiro(s) paraténico(s)
HT	Hospedeiro(s) de transporte
L1	Primeiro estágio larvar
PCR	Reacção de Polimerização em Cadeia

I. Estágio curricular

A presente dissertação foi integrada num estágio curricular realizado entre Fevereiro e Junho de 2011, tendo por base um estudo realizado posteriormente entre Maio e Outubro de 2012, no Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa (RIAS). Durante o estágio houve oportunidade de realizar actividades em diferentes áreas, passando pela clínica – incluindo tratamento, enfermagem, cirurgia e necrópsias -, laboratório, trabalho de campo, manutenção e gestão do centro.

1. RIAS (Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa)

O RIAS é uma estrutura pertencente ao Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas (ICNF) / Parque Natural da Ria Formosa (PNRF) e que se encontra, desde Outubro de 2009, sob a gestão da Associação ALDEIA com o apoio da ANA – Aeroportos de Portugal.

O Centro não visa somente o tratamento e recuperação de animais selvagens, mas também promover o desenvolvimento do conhecimento científico, através da investigação; contribuir para o aumento e conservação da biodiversidade e fomentar a Educação Ambiental e a valorização do património natural. No ano de 2011 ingressaram no RIAS 790 animais, sendo que a taxa de libertação foi de 41,3% ($n=305$) durante esse ano.

Das espécies ingressadas (102 espécies distintas), a ordem dos Charadriiformes foi a mais representativa, seguindo-se a dos Passeriformes e Strigiformes (Centro de Recuperação de Animais Selvagens da Ria Formosa [RIAS], 2011).

1.1. Clínica

Entre Fevereiro e Junho foi possível a participação no processo de recuperação de 218 animais, desde o seu ingresso no centro até à reintrodução na natureza.

A grande maioria dos animais ingressados pertence à classe das aves, correspondendo a 82,6% dos indivíduos, sendo as pertencentes à ordem Charadriiformes as mais frequentes (34,4%), seguindo-se a da Passeriformes (28,9%). As principais causas de ingresso foram a queda do ninho, trauma e doença, sendo que as duas últimas representaram as causas mais frequentes na ordem Charadriiformes, com uma percentagem de 30,6% e 32,3%, respectivamente.

Todo este processo de recuperação engloba várias actividades, tais como tratamento da patologia (incluindo cirurgia); enfermagem (pensos, ligaduras, alimentação, medicação); alimentação de crias.

Durante este tempo foram também efetuadas cerca de 90 necrópsias. Os indivíduos sujeitos a exame *post mortem*, não coincidiram directamente com todos os animais ingressados mortos ou que morreram no Centro durante esse tempo, pois foi necessário estabelecerem-se prioridades relativamente à execução de algumas necrópsias, nomeadamente para colheita de amostras urgentes ou exame *post mortem* de animais que permaneciam no centro há mais tempo. A classe fortemente representada foi a das aves, seguindo-se seis mamíferos e um réptil. A causa de morte mais frequente foi por doença aguda, sobretudo do foro neurológico e gastrointestinal, seguida de lesões traumáticas de etiologia diversa.

1.2. Laboratório

Ao longo do estágio curricular foram colhidas e processadas algumas amostras, a fim de ajudar no diagnóstico e de promover a terapêutica sintomatológica que pudesse estar associada a alguma parasitose.

Desde Maio a Outubro de 2012 realizaram-se colheitas de amostras de fezes, de sangue e executaram-se esfregaços fecais, de forma a ter uma quantidade de amostras expressiva para o presente estudo. Das amostras colhidas e processadas, foram analisadas 75 para pesquisa de ovos/oocistos, 52 esfregaços fecais para pesquisa de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. e 53 esfregaços sanguíneos para hemoparasitas

1.3. Trabalhos de campo

Foram realizadas várias actividades no âmbito da ecologia e enriquecimento ambiental de animais selvagens, tais como montagem de redes em túneis de voo ou câmaras de recuperação, construção de poleiros e construção de um charco.

Outras actividades, em sistema rotativo, relacionadas com a manutenção do centro, também foram efectuadas: limpeza de todas as instalações; limpeza e manutenção do biotério; preparação e realização da alimentação; recepção dos animais ingressados; participação nas libertações em ambiente selvagem; participação em campanhas de angariação de material; informatização de dados necessários à gestão do centro e dos animais.

2. Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV – ULisboa

O tempo decorrido no Laboratório de Doenças Parasitárias teve por objetivo o processamento e observação de amostras biológicas para pesquisa de diferentes parasitas dos animais submetidos a amostragem no nosso estudo. Os exames parasitológicos envolveram a aprendizagem e execução de métodos coprológicos qualitativos por flutuação, coloração de esfregaços fecais e esfregaços sanguíneos.

3. Actividades extra-estágio curricular

Nos meses de estágio curricular foi também possível participar no “Workshop de Anatomia e Necrópsia de Aves Selvagens”, nas “Jornadas Formativas: Captura e Manuseamento de Cágados Exóticos e Autóctones”, acompanhar o desenvolvimento do projecto “Estratégias e técnicas demonstrativas para a erradicação de cágados invasores” pertencente ao programa comunitário LIFE+ e participar em eventos e acções de voluntariado do RIAS, tais como angariação de material em espaços públicos e superfícies comerciais.

II. Introdução

A saúde da vida selvagem tem sido reconhecida, frequentemente, como um indicador da saúde do ecossistema. As mudanças ambientais, tais como a transformação artificial das paisagens, a poluição química, a invasão humana e de animais domésticos e as alterações climáticas, tornam as espécies selvagens mais vulneráveis (Trocini, Pacioni, Warren, Butcher & Robertson, 2008). Esta degradação ambiental contínua acarreta maior exposição a agentes patogénicos introduzidos nos ecossistemas, um aumento do *stress* (Reboredo-Fernandéz, Ares-Mazás, Cacciò & Gómez-Couso, 2015), imunossupressão e, portanto, maior suscetibilidade à doença. Neste sentido, os profissionais de saúde animal, nomeadamente os veterinários que trabalham com animais selvagens, são essenciais para lidar com a problemática da saúde atual do planeta (Aguirre, 2009).

As aves em particular são, provavelmente, um dos melhores indicadores do bem-estar ambiental (Papazaridou *et al.*, 2008; Reboredo-Fernandéz *et al.*, 2015). Estas são componentes essenciais do ecossistema, uma vez que atuam como polinizadoras, agentes de dispersão de sementes, controlam naturalmente as pragas e assumem um papel relevante na limpeza do ambiente (Reboredo-Fernandéz *et al.*, 2015). A sua extinção ou decréscimo populacional estão relacionados com a consequente degradação da natureza. Portanto, o trabalho realizado no sentido da preservação da diversidade de aves é também uma luta pela conservação do ambiente (Papazaridou *et al.*, 2008). Para o desenvolvimento de estratégias de proteção ambiental é importante conhecer a prevalência dos diferentes agentes patogénicos, incluindo parasitas (Ferrer, Molina, Castellà & Kinsella, 2004).

O estudo do parasitismo em aves selvagens está sujeito a uma série de constrangimentos, sendo que é mais difícil estudar as doenças (e os seus agentes) em espécies de vida livre do que em humanos ou animais domésticos. Portanto, a maioria dos parasitas nestes indivíduos estão ainda por descrever taxonomicamente. Alguns grupos, tal como hemoprotozoários, têm sido descritos intensivamente, provavelmente pela maior facilidade em se obter amostras sanguíneas,

enquanto que acerca de outros grupos parasitários, tal como os flagelados intestinais, sabe-se muito pouco (Wobeser, 2008).

Uma vez que animais admitidos em centros de recuperação poderão atuar como sentinelas das condições ambientais, estes centros têm assumido um papel relevante na vigilância das doenças em animais selvagens e na recolha de dados acerca do estado de saúde ambiental. Neste sentido, este método oportuno e com poucos custos, incentiva a estudos epidemiológicos mais completos e complexos, que implicariam custos mais elevados. O conhecimento adquirido através de análises estatísticas de bases de dados de centros de recuperação é crucial para programas de monitorização de doenças em ambiente selvagem, saúde dos ecossistemas e avanços na medicina de animais selvagens (Trocini *et al.*, 2008).

Em Portugal, apesar da existência de alguns trabalhos elaborados na área da parasitologia em aves selvagens, estes focam-se maioritariamente em rapinas e/ou estudos hematológicos ou relativos a helmintes intestinais. Sendo assim, ainda persiste um desconhecimento alargado da parasitofauna dos vários grupos de espécies autóctones no nosso país. O presente trabalho pretende, assim, contribuir para o enriquecimento do saber na parasitologia da avifauna portuguesa e alargar o conhecimento essencial para a monitorização e preservação ambientais.

III. Revisão Bibliográfica

1. Ecologia das Aves Selvagens

As aves, como resultado da evolução e adaptação morfológicas que sofreram ao longo dos anos, são capazes de sobreviver em ambientes bastante distintos, tendo, por isso, uma distribuição muito ampla (Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas [ICNF], 2002).

O Parque Natural da Ria Formosa, assim como toda a região do litoral algarvio, devido à sua localização, diversidade de habitats e produtividade biológica, aliado ao facto de existirem muitas áreas protegidas, é uma zona onde se pode encontrar uma grande variedade de espécies e representa uma importante área de nidificação e de escala migratória entre o norte da Europa e África (ICNF, 2007).

1.1. Rapinas

O termo rapina provém do latim *rapere*, que pode ser traduzido pelo ato de roubar com violência, associado à forma como as aves predadoras obtinham alimento (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade [ICMBCB], 2008).

Numa definição mais ampla de aves de rapina, podemos considerar as aves carnívoras especializadas na caça de animais, com características morfológicas que lhes permite a captura

das presas (nomeadamente garras e bicos fortes) e um bom desenvolvimento dos sentidos auditivo e visual (ICMCB, 2008; Roa & Alvarado, 2011).

As rapinas podem dividir-se em dois grandes grupos: diurnas e noturnas. As diurnas são representadas pelas Ordens dos Falconiformes (integrando a família Falconidae) e Accipitriformes (famílias Accipitridae e Pandionidae), onde se inserem os falcões, as águias, os abutres e os milhafres. As noturnas pertencem à ordem Strigiformes (famílias Strigidae e Tytonidae), da qual fazem parte os mochos e as corujas (Viana, 2010).

A grande maioria das aves rapaces é exclusivamente carnívora, capturando uma enorme variedade de vertebrados, desde mamíferos a anfíbios, répteis ou peixes, sendo que algumas espécies também se alimentam de insetos e outros invertebrados. O tipo de presa preferencial pode variar bastante, dependendo do habitat e da disponibilidade de alimento. Um elevado número de espécies consome pequenos mamíferos, principalmente roedores, por serem presas relativamente fáceis e abundantes (ICMCB, 2008).

Estas aves podem ocupar vários tipos de ambiente, sendo que as diferentes espécies escolhem o habitat segundo as suas características e necessidades primordiais, como seja a disponibilidade de alimento, proteção contra os predadores ou a existência de sítios adequados para a construção dos ninhos, garantindo assim o seu êxito reprodutivo. No entanto, as zonas florestais são as habitadas por um maior número de espécies (Martínez & Calvo, 2006; ICMB, 2008)

1.2. Marinhas

Segundo Schreiber e Burger (2001), aves marinhas são aquelas que vivem e sobrevivem a partir do ambiente marinho e, devido às suas adaptações morfológicas, fisiológicas e comportamentais, conseguem viver simultaneamente em terra, ar e água e explorar os mais diversos habitats: ilhas, áreas costeiras, estuários, zonas húmidas e ilhas oceânicas.

Das aves marinhas fazem parte as ordens Sphenisciformes, Procellariiformes, Pelecaniformes e Charadriiformes (com exclusão das espécies limícolas). As aves da ordem Ciconiiformes e as limícolas não são, geralmente, consideradas aves marinhas, apesar de se alimentarem em zonas costeiras e litorais (Schreiber & Burger, 2001). No entanto, vão ser abordadas mais adiante como parte integrante das aves marinhas.

Estas aves possuem características ecológicas que as distinguem das restantes: têm uma esperança de vida longa (entre 20 e 60 anos), maturidade tardia (idade reprodutiva a partir dos 10 anos), ninhadas pequenas e fases de cria extensas (mais de 6 meses) (Solari, 2004). Tendem a ser maiores e normalmente menos coloridas que as aves terrestres, sendo que as cores normalmente variam entre o branco, preto, cinzento e castanho (Furness & Monaghan, 1987).

As marinhas encontram-se entre as espécies de aves mais aéreas e com capacidade de passar semanas, meses ou, em alguns casos, até mesmo anos, no mar. Por esta razão, uma grande diversidade de espécies marinhas evoluiu de forma a alimentar-se das mais variadas formas neste ambiente e a maioria destas adaptações estão relacionadas com os métodos de captura (desde o mergulho ao simples contacto com a água). Dependendo do tipo de alimentação e do local onde procuram alimento, podem ser categorizadas por: costeiras, de alto-mar e pelágicas. Podem alimentar-se durante o dia ou à noite, de acordo com o comportamento das suas presas preferenciais, que se encontram nos mais diversos níveis tróficos da cadeia alimentar marinha: desde zooplâncton, passando pelos moluscos e crustáceos até aos pequenos peixes pelágicos (Shealer, 2001). Neste contexto desempenham um papel importante nos ecossistemas marinhos, principalmente a nível da contaminação do meio. Diversos estudos salientam a importância que as aves marinhas têm, enquanto predadores de topo, ao interagirem com as alterações que surgem nos níveis mais baixos da cadeia alimentar trófica marinha (Meirinho, 2009).

Estas espécies representam um dos melhores exemplos de vida em colónia. São normalmente monogâmicas, reprodutoras coloniais e com uma forte tendência para voltar à colónia onde nasceram na sua época reprodutiva (Furness & Monaghan, 1987).

- Limícolas

Aves pertencentes a este grupo normalmente não são consideradas verdadeiramente marinhas, mas apresentam características ecológicas, taxonómicas e comportamentais em comum e que lhes permite sobreviver e alimentar-se sobre ou perto de meios marinhos.

Possuem uma diversidade de habitats, mas normalmente dependem de ambientes húmidos na procura de alimento, como zonas costeiras e estuários, margens de ecossistemas aquáticos e zonas entre-marés. As suas diferenças morfológicas (normalmente na forma e tamanho do bico) estão relacionadas com o habitat e os métodos de captura em que o bico apresenta um papel preponderante, quer para apanhar presas em colunas de água, ou substratos, quer para explorar e penetrar em zonas húmidas e lodosas.

Há uma variabilidade considerável interespecífica, e mesmo intraespecífica, na morfologia do bico, o que resulta em grande variedade de hábitos alimentares.

As limícolas tendem a ser aves omnívoras, alimentando-se, na sua maioria, de invertebrados, como gastrópodes, bivalves e insetos, mas também de pequenos vertebrados, sementes e fruta (Warnock, Elphick & Rubega, 2001).

Uma percentagem elevada de espécies limícolas é migratória e muitas delas fazem milhares de quilómetros sem paragens para alimento ou água, o que faz com que hajam áreas de paragem migratória onde se alimentam intensivamente de modo a adquirir grandes quantidades de

gordura crucial para os voos de longa-distância. Algumas fazem migrações mais dispersas e estão dependentes de pequenas zonas húmidas intercorrentes com as rotas migratórias (Harrington, 2007).

- **Aves Pernaltas**

Deste grupo fazem parte espécies da ordem dos Ciconiiformes. São englobadas em três famílias principais: a família Ardeidae, que é a mais diversa (com aproximadamente 60 espécies), onde pertencem as garças e os alcaravões; a família Threskiornithidae, que abarca cerca de 30 espécies, onde se encontram as Íbis e os Colhereiros; e a família Ciconiidae que engloba todas as espécies de cegonhas (aproximadamente 20 espécies) (Frederick, 2001).

As pernaltas distinguem-se das limícolas principalmente pelas suas patas, dedos, pescoço e bico longos. Estas características permitem-lhes procurar alimento em habitats de superfícies lodosas, salinas, áreas de águas superficiais e pantanosas; tanto em zonas tropicais, como temperadas. Fazem parte, portanto, da fauna típica de linhas costeiras, não tendo adaptações morfológicas para mergulho (Frederick, 2001) e o comprimento das pernas é restritivo para águas de pouca profundidade (Harrington, 2007).

A sua dieta inclui uma vasta diversidade de animais aquáticos (desde peixes, anfíbios, crustáceos, insetos aquáticos e outros invertebrados), podendo alimentar-se também de pequenos mamíferos quando se encontram em terra. São oportunistas e tendem a especializar-se no que for mais abundante (Frederick, 2001).

São aves socialmente monogâmicas e as colónias reprodutivas e ninhos são normalmente formados em ilhas, quer cercados por água, vegetação ou em árvores altas, o que os protege de predadores terrestres (Frederick, 2001). Em Portugal, conhece-se a única colónia de cegonhas-brancas, a nível mundial, que nidifica em escarpas marítimas. Existem já mais de quatro dezenas de ninhos pertencentes a esta colónia, no Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina (Caetano, 2001).

1.3. Aquáticas

Aves aquáticas são consideradas, neste contexto, aquelas que, em alguma altura do seu ciclo de vida, são dependentes de zonas húmidas para o fornecimento de importantes quantidades de alimento nos períodos de migração e de invernada (Costa & Guedes, 1994). Nesta classificação estão incluídas duas ordens principais – Anseriformes e Gruiformes. As famílias Anatidae (pertencente aos Anseriformes) e Rallidae (pertencente aos Gruiformes) são as mais numerosas, sendo que a Anatidae contém cerca de 143 espécies diferentes, onde se inserem os patos, os gansos e os cisnes (Owen, 1990; Weller, 2003); e a família Rallidae é constituída por 138 espécies de aves (MacLean & Beaufrère, 2015), onde se destacam em Portugal os galeirões e a

galinha d'água (*British Trust for Ornithology* [BTO], 2017). A distribuição das aves aquáticas depende das áreas de nidificação e alimentação mais favoráveis e os movimentos populacionais (que não são consideradas verdadeiras migrações) correspondem às alturas de procura de alimento e mudança estacional (*Fundación Cluster Mar Menor* [FCMM], 2007). Encontram-se em diversos habitats: rios, ribeiras, lagoas, estuários, baías; águas doces ou salobras (Owen, 1990; Weller, 2003). As adaptações para habitat aquático são diversas e incluem mudanças anatômicas, morfológicas, fisiológicas e comportamentais. Os hábitos alimentares também são diversos e requerem sistemas digestivos especializados: alguns têm dietas herbívoras, outros carnívoras, alguns omnívoras e a maioria muda de hábitos estacionalmente, induzida pelas necessidades na época reprodutiva ou migratória (Weller, 2003).

As características morfológicas que caracterizam a família Anatidae fazem destas aves aquáticas excelentes nadadoras (patas curtas, fortes e com membranas interdigitais) e, ao mesmo tempo, com grande capacidade de voo. Possuem pescoços moderadamente compridos e bicos achatados e largos, sendo que algumas poucas espécies apresentam bico longo, duro e fino. Estas divergências morfológicas acontecem pelas diferentes técnicas de captura de alimento. A maior parte das espécies são grandes voadoras, apesar de algumas não terem essa capacidade (Kirshner & Forshaw, 1995), e efetuam frequentemente verdadeiras migrações cujas trajetórias são, na sua maioria, determinadas pelas condições meteorológicas. São aves muito dinâmicas e capazes de percorrer milhares de quilômetros e de explorar novos habitats, como charcos permanentes, criados por drenagens agrícolas, ou temporários, originados por chuvas intensas (FCMM, 2007). Os anatídeos têm uma alimentação muito diversificada, sendo omnívoros na sua maioria. No entanto, as crias costumam ser insectívoras, exceto em espécies de gansos e cisnes, que costumam ser exclusivamente herbívoras (Owen, 1990). Existem três métodos principais utilizados na procura de alimento: pastoreio, alimentação à superfície de água e mergulho. Podem alimentar-se de ervas, sementes, grãos de cereais e vegetação aquática; ou de peixes, invertebrados aquáticos (moluscos, crustáceos) e insetos (Kirshner & Forshaw, 1995).

Na família Rallidae são relativamente pequenos, o que lhes permite andar entre a vegetação densa, onde habitualmente se escondem. Apresentam bicos adaptados à procura de alimento na lama ou a superfície de água e os dedos são longos e fortes, permitindo-lhes caminhar na lama e também mergulhar (BTO, 2017). Os hábitos alimentares são muito variáveis, com mudanças sazonais, alternando entre alimentos de origem animal (normalmente invertebrados), sementes, tubérculos e folhagens no outono e inverno. O mergulho é utilizado para procurar vegetação submersa ou invertebrados, especialmente na época de nidificação ou de alimentação das crias. Certos membros desta família perdem a capacidade de voo durante a muda das rémiges (penas

de voo), no entanto, e apesar de voarem pouco, alguns são capazes de percorrer longas distâncias (Weller, 2003). A maioria das espécies é monogâmica (BTO, 2017).

As aves aquáticas constituem ótimos indicadores biológicos da qualidade das zonas húmidas, por se agruparem normalmente em grande número e serem vulneráveis a diversas ameaças (ICNF, 2014).

1.4. Estepárias

O nome estepária provém da palavra “estepe” que deriva do russo e significa “ausência de árvores” e que está associada a planícies. As verdadeiras estepes são originárias da Europa de Leste e Ásia oriental, mas o termo é utilizado na zona mediterrânea para descrever ecossistemas seminaturais ou humanizados (Alcazar, Guilherme & Estanque, 2011), de atividade agropecuária, onde predomina o cultivo cerealífero, pastagem e cultura de leguminosas (Alcazar, 2009).

A planície estepária apresenta características muito particulares e carácter inóspito (escassez de árvores, alta exposição a diferentes condições meteorológicas, poucos locais seguros para nidificação e abrigo, baixa produtividade) (Marques, 2012) mas, no entanto, as aves estepárias são espécies adaptadas a este habitat e que apresentam características morfológicas, ecológicas e comportamentais que lhes permitem sobreviver e depender deste ambiente (Alcazar, 2009). São aves pertencentes a diversas famílias, como as limícolas e os Passeriformes. Entre outras espécies, destacam-se a abetarda (*Otis tarda*), o peneireiro-das-torres ou francelho (*Falco naumanni*) e o Sisão (*Tetrax tetrax*), como exemplos importantes na conservação deste ecossistema em Portugal (Alcazar, Barbosa & Estanque, 2012).

As estepárias apresentam em comum a dependência deste habitat para se alimentar, já que a sua alimentação é feita à base de sementes e rebentos de plantas e pequenos invertebrados (Alcazar, 2009). Algumas poderão eventualmente alimentar-se de aves, répteis, anfíbios e pequenos mamíferos (Alcazar *et al.*, 2012).

Diferem, no entanto, a nível reprodutivo: enquanto algumas espécies nidificam no solo (normalmente em pastagens ou vegetação alta e densa), outras fazem-no em cavidades existentes em diversas estruturas (árvores, edifícios ou rochas). As que nidificam nas pseudo-estepes, ou pastagens cerealíferas, apresentam uma plumagem mais discreta e patas compridas e adaptadas a caminhar enquanto se alimentam (com menos dedos e uma área plantar mais reduzida); para além disso, formam bandos, o que lhes permite ter alguma proteção contra predadores (Alcazar, 2009).

1.5. Passeriformes

A palavra Passeriforme tem origem no latim *passer*, que significa pardal e que, por sua vez, é um típico passeriforme.

Este grupo constitui a maior ordem de aves descrita e compreende cerca de 5300 espécies. Existem três sub-ordens (Passeri, Tyranni e Acanthisitti), sendo que a Passeri integra a maior parte das espécies (aproximadamente 5000). São descritos vulgarmente como “pequenos pássaros que cantam”, já que possuem os músculos da siringe bem desenvolvidos (Unwin, 2011).

Esta ordem tem uma distribuição mundial, excepto na Antártica, atingindo a sua maior diversidade nos trópicos. Por ser extremamente diversa, torna-se difícil a generalização de características, hábitos e comportamentos.

Normalmente são aves mais pequenas do que as pertencentes a outras ordens. Muitas apresentam plumagens mais coloridas do que outras espécies que integram outros grupos de aves (Edwards & Harshman, 2013) e por isso são de observação relativamente fácil. Possuem uma estrutura das patas anisodáctila: três dedos direccionados cranialmente e um caudalmente, o que lhes permite pousar em superfícies verticais, tal como árvores ou penhascos (Smith, 2015). A morfologia dos bicos varia bastante em tamanho e forma, dependendo do tipo de dieta: podem ser frugívoros, insectívoros, carnívoros, granívoros (Nijboer & Lightfoot, 2011) ou nectívoros e utilizam diferentes métodos de obtenção de alimento (Smith, 2015).

A nidificação pode ser feita em vários locais, desde árvores até margens de rios e mediante técnicas distintas, sendo que os ninhos são sempre camuflados no meio circundante (Edwards & Harshman, 2013).

2. Parasitas Gastrintestinais

2.1. Cestodes

Os cestodes são parasitas que se distinguem facilmente dos outros helmintes, devido à sua aparência segmentada, e infetam muitas aves selvagens, sendo que a sua prevalência poderá ser bastante alta.

Estes parasitas são pertencentes ao filo Platyhelminthes, classe Cestoda, que é dividida em 18 ordens, mas apenas algumas são relevantes na prática veterinária (Bowman, 2014a) e em aves selvagens. Cerca de 70 espécies pertencem às ordens Tetrabothriidea e Diphyllbothriidea (contendo uma única família parasita de aves – Diphyllbothriidae) e as restantes são pertencentes à ordem Cyclophyllidae, sendo que a maioria das espécies desta ordem parasitas de aves pertencem às famílias Hymenolepididae, Dilepididae e Davaineidae.

Estes parasitas normalmente medem entre 1-2 milímetros até um metro de comprimento, no entanto a maioria mede menos que 10 centímetros. O seu aspeto segmentado é dado pelo seu corpo (estróbilo) constituído por uma cadeia de proglótides (unidades repetidas). Apresenta um escólex, na sua parte mais anterior, com estruturas de fixação que poderão apresentar ganchos e um pequeno pescoço. Quando o estróbilo (corpo) é maduro, divide-se em três zonas: uma zona de proglótides imaturas (a seguir ao escólex), uma zona de proglótides sexualmente maduras com sistemas reprodutivos funcionais e uma zona pós-reprodutiva (grávida) que contém ovos prontos a serem expelidos pelo hospedeiro (Taylor, Coop & Wall, 2007b; McLaughlin, 2008). Normalmente os segmentos grávidos são separados do estróbilo e excretados intactos pelas fezes; no exterior os ovos são libertados por desintegração do segmento ou expelidos pelo poro genital (Taylor *et al.*, 2007b). São seres hermafroditas, isto é, dá-se autofertilização com tecidos reprodutivos de macho e fêmea no mesmo proglótide (Friend & Franson, 1999c; Taylor *et al.*, 2007b); o zigoto que é concebido por fertilização, é envolvido por uma substância nutritiva e encerrado por uma casca produzida pelo trato reprodutivo feminino (Bowman, 2014a). As ordens Tetrabothriidea, Cyclophyllidea e família Diphylobothriidae distinguem-se pela morfologia do escólex e proglótides maduros: os Cyclofilídeos possuem quatro ventosas e a maioria das espécies apresenta um *rostellum* que é normalmente munido de ganchos; já a ordem Tetrabothriidea não possui um *rostellum* e possui igualmente quatro grandes ventosas (bótria) em forma de folha (McLaughlin, 2008); o escólex da Diphylobothriidae apresenta dois sulcos, um dorsal e um ventral, que se achatam e permitem a sua fixação (Taylor *et al.*, 2007b).

A maioria das espécies infecta o intestino dos hospedeiros (McLaughlin, 2008), onde os adultos se encontram acoplados à mucosa, presos por ganchos localizados no escólex (Zucca, 2000); algumas espécies podem localizar-se no ceco e *Gastrotaenia* sp. pode infectar a moela. Ocasionalmente poderão infetar os ureteres (McLaughlin, 2008).

Na ordem Cyclophyllidea o ovo embrionado consiste numa oncosfera com um embrião hexacanto (três pares de ganchos), num embrióforo caracterizado por uma “capa” grossa, escura e estriada e uma membrana delicada que desaparece frequentemente quando ainda está no útero. Os ovos da família Diphylobothriidae são distintos: a “capa” do ovo é grossa, acastanhada e operculada e o coracidium, que emerge após a eclosão, é uma oncosfera com um embrióforo ciliado para permitir a sua mobilidade na água (Taylor *et al.*, 2007b).

2.1.1. Distribuição e Hospedeiros

Como referido acima, a maioria das espécies de cestodes que infectam aves ocorre na ordem Cyclophyllidea e nas famílias Hymenolepididae, Davaineidae e Dilepididae, sendo que a

primeira é a que contém um maior número de espécies e de hospedeiros. Neste seguimento, a principal ordem de aves hospedeira de cestodes pertencentes à família Hymenolepididae é a ordem dos Anseriformes; por sua vez, a família Davaineidae parasita indivíduos da ordem dos Galliformes e Gruiformes e Dilepididae utiliza como principais hospedeiros os Galliformes (McLaughlin, 2008). Devido ao facto de necessitarem, no seu ciclo de vida, de um hospedeiro intermediário, normalmente são afetadas aves insectívoras e carnívoras e, menos frequentemente, granívoras e frugívoras (Zucca, 2000). Os habitats de zonas húmidas propiciam as trocas de espécies de cestodes entre hospedeiros, pois existe uma série de fatores que potenciam o contacto entre estádios larvares infetantes de cada hospedeiro: presença de inúmeras espécies, espaço limitado de procura de alimento e dietas semelhantes. Fatores ecológicos, mais do que fisiológicos ou relações filogenéticas, são determinantes para o sucesso infeccioso destes helmintes (McLaughlin, 2008). Numa pesquisa pela helmintofauna em aves marinhas no arquipélago Svalbard na Noruega, elaborada por Kuklin, Galkin, Marasaev e Marasaeva (2003), os cestodes surgiram com uma prevalência de cerca de 88% nos indivíduos analisados. Já na República Checa, num estudo parasitológico realizado por Moravec e Scholz (2016) em corvos marinhos, uma espécie de cestodes esteve representada em 48% e 43% nas duas localidades em que foi realizada a análise. Por sua vez, no Brasil foram analisados indivíduos *Meleagris gallopavo* (ordem dos Galliformes), sendo que foram encontradas duas espécies de céstodes – *Hymenolepis cantaniana* e *Raillietina tetragona* – ocorrendo no seu conjunto com uma prevalência de 20% (Pinto, Breber, Menezes & Tortelly, 2008).

2.1.2. Ciclo de vida

O ciclo de vida de parasitas da Classe Cestoda é indireto e serão necessários um hospedeiro definitivo (HD) e um ou dois hospedeiros intermediários (HI) para que o ciclo se complete (Taylor *et. al*, 2007b). Dentro de uma mesma família o ciclo de vida é idêntico, no entanto, o HI difere (McLaughlin, 2008).

Com exceção das famílias Gryporhynchidae e Mesocestoididae, a maioria dos ciclos dos Ciclofilídeos possuem um único HI e são, em grande parte, hospedeiros invertebrados: crustáceos, larvas de insetos, anelídeos (no caso das aves aquáticas) e insetos, anelídeos e moluscos (em caso de se tratarem de aves terrestres); espécies que infetam rapinas utilizam roedores como hospedeiros intermediários (McLaughlin, 2008).

Na ordem Cyclophyllidea o ciclo dá-se da seguinte forma: após a ingestão do ovo pelo HI, as secreções gástricas e intestinais digerem o embrióforo e ativam a oncosfera (Taylor *et al.*, 2007b); esta penetra no intestino onde se vai fixar ao nível do hemocélio, celoma ou glândula digestiva e desenvolver-se numa larva cisticercóide que será a forma infetante para o HD. Em

condições ótimas, o desenvolvimento destas formas cisticercóides dar-se-á entre 6 dias a 4 semanas (McLaughlin, 2008). Quando a larva infetante é ingerida pelo HD, a maior parte do corpo da larva é digerido, deixando só o escólex e uma parte de tecido indiferenciado (pescoço). O escólex prende-se à parede intestinal e a partir do pescoço começam a brotar segmentos; estes permanecem acoplados uns aos outros de maneira a formar uma cadeia. Primeiramente, os segmentos permanecem indiferenciados, mas gradualmente, nos segmentos mais distantes, vão-se diferenciando em ovários, testículos e outros órgãos reprodutivos. Estes, por sua vez, vão lentamente maturando, são formados óvulos e esperma e a fertilização ocorre. Dependendo da espécie de cestode, os óvulos fertilizados poderão ser libertados por um poro uterino (ordem Diphyllbothriidea) ou armazenados num segmento e eliminados com este para o ambiente através das fezes (ordem Cyclophyllidea) (Bowman, 2014a).

2.1.3. Sinais clínicos

Existem poucas evidências de haver afeção patológica pela infeção por cestodes, a não ser que se gere uma infeção massiva (McLaughlin, 2008).

As infeções por cestodes são normalmente assintomáticas e quando estamos na presença de sinais clínicos, estes são pouco específicos: emaciação, fraqueza e, ocasionalmente, diarreia e hemorragia (McLaughlin, 2008), que poderá ocorrer se houver uma absorção de nutrientes por parte do parasita (Greiner & Ritchie, 1994); produtos metabólicos do parasita podem provocar irritação e inflamação da mucosa intestinal, resultando numa má digestão e má absorção (Krone & Cooper, 2002). Estes sinais poderão ser acompanhados por mudanças na postura ou locomoção e comportamento alimentar. No entanto, a interpretação dos sinais clínicos pode ser confundida pela sobreposição e ocorrência de infeções mistas de helmintes e protozoários (McLaughlin, 2008).

2.1.4. Tratamento e Controlo

Não existe uma forma prática e acessível de controlar as infeções por cestodes em populações selvagens. Medidas de controlo requerem uma rutura no ciclo de vida pela redução ou eliminação do contacto com potenciais hospedeiros intermediários. Esta medida poderá ser viável numa escala limitada para pequenas populações, mas não é exequível a um nível que permita abranger populações selvagens inteiras. Em aves de cativeiro, o *stress* associado à captura e ao confinamento poderá exacerbar os efeitos da infeção. Existem vários tratamentos recomendados, mas de uma forma geral, a niclosamida é bastante utilizada em espécies de Gruiformes, Anseriformes (exceto gansos), Falconiformes e Strigiformes. Praziquantel é eficaz em espécies de Columbiformes, Passeriformes (família Sturnidae) e Otiformes (McLaughlin,

2008). Outros compostos que também se têm demonstrado eficazes em aves incluem o flubendazol, mebendazol e febantel (Taylor *et. al*, 2007a).

2.2. Nematodes

2.2.1. Ascarídeos

Os ascarídeos são os parasitas mais comuns encontrados em aves mantidas em espaços fechados com acesso ao solo (Greiner & Ritchie, 1994).

A ordem Ascaridida engloba as famílias Heterakidae e Ascaridiidae, às quais pertencem os géneros *Heterakis* e *Ascaridia*, respectivamente.

As espécies de *Ascaridia* são relativamente grandes (entre 16 e 120 mm) e as fêmeas tendem a atingir um comprimento maior que os machos. Infetam comumente o intestino delgado dos hospedeiros definitivos. Espécies de *Heterakis*, por sua vez, são pequenas, apresentando um comprimento que ronda os 5.5 a 31 mm, sendo que os machos são ligeiramente mais pequenos que as fêmeas. Ocorrem nos hospedeiros ao nível do ceco (Fedynich, 2008).

Os ovos de *Ascaridia* spp. e *Heterakis* spp. são difíceis de diferenciar. Apresentam uma aparência elipsoidal com paredes lisas e grossas (Taylor *et al.*, 2007a; Park & Shin, 2010; Teixeira, Monteiro, Catenacci, Rodrigues & Sato, 2012), sendo que os de *Ascaridia* sp. medem 70-90 µm x 40-60 µm (Teixeira *et al.*, 2012) e os de *Heterakis* sp. 66 - 79 µm × 41 - 48 µm. (Zajac, Conboy, Greiner, Smith & Snowden , 2012a).

As espécies mais reportadas em aves, e também as mais cosmopolitas, são: *Ascaridia galli* e *A. columbae*; *Heterakis dispar* e *H. gallinarum* (Fedynich, 2008).

2.2.1.1. Distribuição e Hospedeiros

Têm sido reportadas 107 espécies de aves hospedeiras para *Heterakis* spp. e 139 para *Ascaridia* spp. *A. galli* é normalmente encontrada em Galliformes, Columbiformes e Anseriformes; *A. columbae* em Columbiformes. Quanto às espécies de *Heterakis*, *H. dispar* infecta Anseriformes e *H. gallinarum* já foi reportado em muitas espécies de Galliformes e em Anseriformes (Yazwinski & Tucker, 2008; Park & Shin, 2010; Teixeira *et al.*, 2012).

2.2.1.2. Ciclo de vida

As famílias Heterakidae e Ascaridiidae possuem ciclos de vida diretos (monóxenos); no entanto, pelo menos duas espécies destas famílias, *Heterakis gallinarum* e *Ascaridia galli*, têm no seu ciclo de vida, em particular o segundo nematode, espécies de anelídeos como hospedeiros paraténicos ou de transporte (HP/HT). Gafanhotos e bichos-de-conta também estão descritos como HT no ciclo de vida de *H. gallinarum*. Nestes casos, em que existe HP/HT, as

larvas infetantes eclodem a partir dos ovos após estes serem ingeridos pelo anelídeo (ou outro HT/HP), e permanecem nos tecidos dos mesmos. A infecção acontece quando os HT são ingeridos pelo HD (Fedynich, 2008).

Após ingestão do ovo embrionado ocorre eclosão das larvas a partir do mesmo, ao nível do trato gastrointestinal superior. No caso das espécies de *Ascaridia*, nomeadamente *A. galli*, os ovos eclodem no proventrículo e as larvas permanecem no lúmen do duodeno e jejuno durante cerca de nove dias; após este tempo, vão alojar-se na mucosa, onde permanecerão cerca de 17 dias, até migrarem novamente para o lúmen a fim de ocorrer a maturação. A maturação das fêmeas ocorre entre 24-40 dias, dependendo das espécies de ascarídeos. Já no caso de espécies de *Heterakis*, nomeadamente *H. gallinarum*, a eclosão também ocorre no trato gastrointestinal superior, mas as larvas migram para o ceco onde vão penetrar as criptas e permanecer durante 3 dias; posteriormente, ocorre uma migração para o lúmen da parte distal do ceco, local onde se dá a maturação em indivíduos adultos. Para algumas espécies (e.g. *H. isolonche*), as larvas penetram e maturam dentro da mucosa. Para ambos os géneros, as fêmeas grávidas libertam os ovos não-embrionados no lúmen e são subsequentemente excretados pelas fezes (Fedynich, 2008). O tempo que os ovos levam a amadurecer no exterior depende das condições ambientais e acontece em aproximadamente 2 semanas após serem expelidos pelo HD; a temperatura e humidade são fatores preponderantes no processo de formação do embrião (Yazwinski & Tucker, 2008). Se as condições forem ótimas, nomeadamente um ambiente quente e húmido, os ovos conseguem permanecer infetantes por longos períodos de tempo (Greiner & Ritchie, 1994).

2.2.1.3. Sinais clínicos

Ascaridia sp. está entre os nematodes mais prevalentes e patogénicos encontrados em aves domésticas e selvagens (Liu *et al.*, 2013). As manifestações clínicas da doença são frequentemente observadas em indivíduos jovens (Forbes, 2008) e normalmente só são patogénicas em infeções extensas (Cooper, 2002; Papini, Girivetto, Marangi, Mancianti & Giangaspero, 2011). De acordo com Teixeira *et al.* (2012), neste tipo de infeções os sinais clínicos poderão incluir: emaciação, perda de peso, enterite catarral, obstrução, rutura intestinal, peritonite e morte, tal como observado num estudo realizado pelo autor, em que as aves jovens afetadas apresentaram diarreia, desidratação, perda de peso, emaciação e enterite.

O género *Heterakis* pode causar sinais clínicos pouco específicos como emaciação, letargia, diarreia e dispneia (Fedynich, 2008), principalmente em faisões em cativeiro parasitados por *H. isolonche* cuja infeção provoca tiflite nodular (Park & Shin, 2010) e mortalidade elevada (Yazwinski & Tucker, 2008). Isto pode ser verificado por Halajian *et al.* (2013) aquando da

concretização de um estudo em faisões parasitados por *H. gallinarum* e *H. isolonche*, os quais apresentavam fraqueza, emaciação, diminuição do apetite, inatividade e diarreia e foi identificada tiflite crónica durante a realização de necrópsias. *H. gallinarum* adquire alguma importância pela sua capacidade de transmissão de *Histomonas meleagridis* em perús, agente da histomonose, tiflo-hepatite, também conhecida como doença da cabeça negra (do inglês “*blackhead*”), sendo transportado nos ovos e larvas do nematode (Foreyt, 1997; Zajac *et al.*, 2012a).

2.2.1.4. Tratamento e Controlo

Não está reconhecida a eficácia ou benefícios de tratamentos ou controlo em larga-escala de aves em ambiente selvagem, portanto são conhecidas algumas recomendações para animais em cativeiro, tais como a desinfecção dos recipientes de alimentação e água e colocação dos animais em estruturas em malha de metal e acima do solo, a fim de prevenir o contacto com as fezes e o solo (Fedynich, 2008); é determinante a elaboração de boas práticas sanitárias a fim de diminuir o nível de infeção e controlar a população parasitária (Ashraf *et al.*, 2015). Têm sido usados anti-helmínticos em aves domésticas, nomeadamente galinhas e perus, que poderão ser eficazes em aves selvagens de vida livre ou em cativeiro (Fedynich, 2008). Compostos de piperazina são usados frequentemente no tratamento de ascaridiose (Yazwinski & Tucker, 2008). Outras substâncias incluem o tetramisol e levamisol para o tratamento de *H. gallinarum* e *A. galli* (Fedynich, 2008). Segundo Yazwinski e Tucker (2008), estudos experimentais demonstraram eficácia do febendazol no tratamento de indivíduos parasitados por estas duas espécies; também se mostrou eficaz no tratamento de infeções mistas de *H. gallinarum* e *H. isolonche*, tal como se pode observar no estudo elaborado por Halajian *et al.* (2013) no tratamento de faisões.

2.2.2. Capilarídeos

A falta de conhecimento de taxonomia e dos ciclos de vida destes parasitas em aves selvagens dificulta estudos realizados neste âmbito.

Os capilarídeos parasitam todas as classes de vertebrados (Yabsley, 2008a). Nas aves podem dividir-se em dois grupos: as espécies que parasitam o trato gastrintestinal superior (esófago e papo) e as que parasitam o trato gastrintestinal inferior, nomeadamente o intestino delgado e, mais raramente, o ceco (Park & Shin, 2010). São caracterizados por serem pequenos e finos e possuírem um esófago, que é uma característica peculiar dos nematodes da Superfamília Trichinelloidea. O esófago é constituído por uma parte muscular anterior e mais curta, e uma

parte posterior comprida e glandular (esticossoma), formada por células glandulares cuboides, denominadas esticócitos (Cross, 1992; Yabsley, 2008a).

Os ovos de *Capillaria* spp. são facilmente distinguíveis, dado que são bi-operculados e de coloração dourada (Yabsley, 2008a); apresentam um comprimento entre 45-70 µm (dependendo das espécies) (Zajac *et al.*, 2012a) e a sua superfície pode ser lisa ou de textura variada (Yabsley, 2008a).

2.2.2.1. Distribuição e Hospedeiros

A maioria das espécies de *Capillaria* que parasitam aves possuem um pequeno leque de hospedeiros e apresentam especificidade (*host-specific*), tendo uma distribuição mais restrita. Já algumas espécies de capilarídeos, altamente adaptáveis, abrangem um maior número de hospedeiros, sendo a sua distribuição mais cosmopolita. Temos como exemplo a espécie *Eucoleus contortus* que abrange hospedeiros de nove ordens de aves diferentes, designadamente: Anseriformes, Charadriiformes, Ciconiiformes, Falconiformes, Galliformes, Gruiformes, Passeriformes, Pelecaniformes e Podicipediformes. Entre as outras espécies que apresentam um maior número de hospedeiros destaca-se *Baruscapillaria obsignata* e *Pterothominx caudinflata* que parasitam seis ordens de aves (Yabsley, 2008a).

2.2.2.2. Ciclo de Vida

Os ciclos de vida estão descritos mais detalhadamente para as espécies infetantes de aves domésticas (Yabsley, 2008a).

Salvo algumas exceções, os ovos não embrionados do parasita passam para o ambiente com as fezes e desenvolve-se um primeiro estágio larvar (L1) no seu interior, tornando-se infetantes entre 7-50 dias, dependendo da espécie, temperatura e humidade.

Nas espécies com ciclo de vida direto, os ovos contendo larvas L1 são infetantes para o próximo hospedeiro. Já nas espécies com ciclo de vida indireto, várias espécies de anelídeos (nomeadamente minhocas) servem como HI obrigatórios (Yabsley, 2008a). No entanto, existe uma exceção que utiliza peixe como HI – *Paracapillaria philippinensis* (*syn. Capillaria philippinensis*)- encontrada em hospedeiros que se alimentam de peixes e a única espécie de *Capillaria* parasita de aves com potencial zoonótico, podendo mesmo resultar em mortalidade nos casos de infeções crónicas e não tratadas, segundo um estudo realizado nas Filipinas por Cross (1992). De acordo com Yabsley (2008a), se a minhoca é HI obrigatório no ciclo de vida, os ovos terão que ser ingeridos pelo anelídeo antes de eclodirem. Após a ingestão dos ovos, estes eclodem no seu trato gastrintestinal e as larvas migram através dos tecidos até o HI ser ingerido por um HD. Nalgumas espécies de capilarídeos, as larvas são imediatamente infetantes

após a eclosão, enquanto noutras é necessário algum desenvolvimento larvar antes da ingestão pelo HD (Yabsley, 2008a).

Em espécies que parasitam aves de rapina (*Eucoleus contortus*, *Eucoleus dispar*, *Baruscapillaria falconis*, *Capillaria tenuissima*), se as minhocas forem os hospedeiros intermediários em ciclos de vida indiretos, os roedores, caso intervenham nestes ciclos, são considerados HP (Yabsley, 2008a).

Os ovos podem sobreviver durante vários meses no meio ambiente, principalmente em temperaturas moderadas e ambiente húmido (Muller, 2010; Ashraf *et al.*, 2015).

2.2.2.3. Sinais Clínicos

Os sinais clínicos poderão ser bastante variáveis, sendo que diferem de acordo com a espécie envolvida e a intensidade da infeção. A maioria das aves selvagens tem infeções com baixa carga parasitária e aquelas que não resistem à infeção por *Capillaria* spp., são normalmente encontrados mortas, sem manifestação de sinais clínicos (Yabsley, 2008a).

A expressão clínica apresentada, quando observável, é pouco específica: regurgitação, disfagia (Muller, 2010), anorexia, emaciação, diarreia, penas em mau estado (Yabsley, 2008a; Junquera, 2015) e hipodipsia. Num estudo realizado recentemente no Brasil com aves da ordem dos Galliformes, os sinais clínicos mais frequentes observados foram: diarreia esbranquiçada, regurgitação, anorexia, dispneia, prostração e movimento de deglutição persistente (Cruz *et al.*, 2015).

2.2.2.4. Tratamento e Controlo

Devem ser tomadas medidas a fim de prevenir o aparecimento da doença ou de infeções extensas, associados a um elevado nível de *stress* (Yabsley, 2008a). As medidas de prevenção requerem uma preocupação pela higienização dos espaços; a utilização de pavimento adequado (nomeadamente elevado do solo e em malha de metal), uma vez que há contaminação fecal; a separação de comedouros e bebedouros e restrição no acesso ao espaço onde se encontram os animais (Cruz *et al.*, 2015); e a redução do número de aves alojadas na mesma área (Yabsley, 2008a).

Têm sido utilizados, como tratamento mais eficaz para infeções de animais com capilarídeos, anti-helmínticos como febendazol, levamisol (Yabsley, 2008a) e mebendazol (Muller, 2010). No entanto, segundo Cruz *et al.*, (2015), tem sido documentada resistência a estas substâncias. No estudo em Galliformes, já referido anteriormente, apresentado por este investigador, o tratamento anti-helmíntico que demonstrou maior eficácia no tratamento de *E. contortus* foi a combinação eprinomectina + fipronil + metopreno + praziquantel (Broadline®, Merial).

2.3. Protozoários

2.3.1 Coccídias: Família Eimeriidae – *Isospora*, *Eimeria* e *Avispora* (syn. *Caryospora*)

As coccídias infetam todas as classes de vertebrados e são um grande e complexo grupo de parasitas intracelulares obrigatórios do filo Apicomplexa que compreende um vasto número de espécies (Yabsley, 2008b).

A classificação destes parasitas é baseada em características morfológicas, principalmente dos oocistos esporulados, resistentes no ambiente. Este estágio é o único que é excretado nas fezes do hospedeiro e, por isso, o mais frequentemente observado. A grande maioria das coccídias são descritas unicamente pela morfologia destes oocistos eliminados e, em muitos casos, nada mais se conhece acerca do seu desenvolvimento no hospedeiro (Yabsley, 2008b). Os oocistos normalmente são eliminados não esporulados, apresentam um comprimento menor que 45 µm, contêm um corpo esférico (esporoblasto) de aparência granular e podem ser redondos, elipsóides ou ovóides; podem apresentar um espessamento da parede (o micrópilo) e, se este estiver presente, poderá ter um opérculo. A parede pode ser regular ou mamilonada e tem uma coloração que vai desde incolor até castanha escura (Greiner & Ritchie, 1994).

Os géneros de coccídias que mais se destacam em infecções do epitélio intestinal de aves hospedeiras incluem *Eimeria*, *Isospora*, *Atoxoplasma*, *Tyzzeria*, *Avispora* (syn. *Caryospora*) e *Sarcocystis* (Yabsley, 2008b). São comuns especialmente em Falconiformes, Galliformes e Columbiformes e são responsáveis por alterações entéricas (Zucca, 2000).

Todas as espécies são parasitas intracelulares, normalmente de enterócitos, podendo alojar-se no citoplasma ou no núcleo da célula. A merogonia ocorre dentro do hospedeiro, enquanto que a esporogonia ocorre no exterior; o estágio infetante é o oocisto esporulado e a transmissão sucede quando este é ingerido pelo hospedeiro (Muller, 2010).

- *Isospora* spp.

As espécies conhecidas de *Isospora* como parasitas de aves são monoxenas, com ciclos de vida de um só hospedeiro e há inúmeras espécies em que todo o ciclo de vida é restrito ao epitélio intestinal. A maioria das espécies deste género é considerada altamente específica para os respetivos hospedeiros. Pouco se sabe para além da morfologia dos oocistos e, mesmo existindo espécies que poderão ser patogénicas para o hospedeiro, se existe um impacto em populações selvagens, também não é conhecido.

A morfologia dos oocistos é distinta entre espécies e podem ser distinguidos, em infeções mistas, pelas diferenças de tamanho. Oocistos maduros de *Isospora* contêm dois esporocistos, cada um contendo quatro esporozoítos (Greiner, 2008).

- *Eimeria* spp.

O género *Eimeria* inclui as coccídias mais reportadas em aves. As espécies do género *Eimeria* podem ser diferenciadas das restantes pertencentes a outros géneros pelas características dos oocistos – cada um contém quatro esporocistos e cada esporocisto, por sua vez, possui dois esporozoítos (Yabsley, 2008b). A parede do oocisto é normalmente acastanhada e muitas espécies possuem um opérculo polar (Bowman, 2014b).

A grande parte das espécies de *Eimeria* que parasitam aves infetam e desenvolvem-se dentro das células epiteliais intestinais; no entanto, algumas espécies desenvolvem-se em localizações extraintestinais. Estádios sexuais, assexuais e o oocisto desenvolvem-se dentro do citoplasma ou do núcleo das células infetadas (Yabsley, 2008b).

- *Avispora* spp.

Recentemente, Schuster *et al.* (2016) demonstraram que, apesar da similaridade entre oocistos de aves e répteis (monoesporocísticos e octozoicos), existem diferenças a nível morfológico, biológico e molecular, entre elas a ausência de corpos de stieda e substieda nas espécies descritas em aves. Berto, McIntosh e Lopes (2014) também já tinham referido a importância destas estruturas na descrição das espécies e notado a sua ausência em espécies que parasitam rapinas. Posto isto, Schuster *et al.* (2016), após terem evidenciado estas diferenças existentes entre espécies parasitas de aves e espécies parasitas de répteis, nomeadamente através de análises filogenéticas moleculares, sugeriram reunir todas as espécies de *Caryospora* que infectam aves, num novo género denominado *Avispora*. Cardozo *et al.* (2017) mencionaram que estas análises moleculares colocam as espécies *Avispora* mais próximas da família Sarcocystidae (família que compreende as coccídias que formam quistos – *cyst-forming coccidia*), o que é consistente com as características morfológicas dos oocistos, uma vez que, tal como *Avispora*, os sarcocystídeos não possuem corpos de stieda.

As coccídias do género *Avispora* possuem ciclos de vida direto ou indireto, sendo o HI normalmente um roedor (Upton, Current & Barnard, 1986; Krone & Cooper, 2002; Lacasse, 2015); ocorre merogonia e gamogonia em ambos os hospedeiros, ocorrendo desenvolvimento intestinal no HD e extra-intestinal no HI (Upton *et al.*, 1986). Em cativeiro, *Avispora* sp. desenvolve-se frequentemente através de ciclo direto e utiliza HP, tal como minhocas (Krone, 2002).

O género caracteriza-se por possuir oocistos com um único esporocisto octozóico – oito esporozoítos (Greiner & Ritchie, 1994; Krone, 2007; Taylor *et al.*, 2007c; Yabsley, 2008b; Zajac *et al.*, 2012a; Viana *et al.*, 2015).

Avispora distingue-se de outros géneros das família Eimeriidae por várias razões: ciclo de vida heteroxeno facultativo; existência de estádios assexuais e sexuais em ambos os hospedeiros (definitivo e intermediário); quistos monozoicos e desenvolvimento em tecidos não epiteliais no HI (Upton *et al.*, 1986; Koudela, Modrý, Volf & Šlapeta, 2000).

2.3.1.1. Distribuição e Hospedeiros

Aproximadamente 140 espécies de *Isospora* com localização entérica têm sido reportadas numa enorme variedade de famílias de aves (Greiner, 2008). Ocorrem muito comumente entre os Passeriformes e não é reportada em Charadriiformes, Columbiformes, Gruiformes, Pelecaniformes e aves domésticas. Nas outras ordens de aves, a sua presença é reportada ocasionalmente (Friend & Franson, 1999b). Em 2015, uma nova espécie, *Isospora lusitanensis*, foi descrita por Cardozo *et al.*, tendo sido observada num passeriforme, *Turdus merula*, no sul de Portugal.

As espécies de *Eimeria* em aves têm sido observadas em todo o mundo. A coccidiose intestinal é uma doença comum e economicamente importante em aves domésticas, embora sejam reportados apenas casos esporádicos de coccidiose intestinal em Aves selvagens (Yabsley, 2008b).

Infeções com coccídias intestinais são provavelmente ubíquas entre as diferentes espécies de aves, no entanto a prevalência de infeções por *Eimeria* spp. varia entre as várias ordens. Cerca de 196 espécies de *Eimeria* foram formalmente descritas em 17 Ordens de aves. No entanto, espécies de *Eimeria* não caracterizadas têm sido reportadas em hospedeiros selvagens. A maioria das espécies de *Eimeria* encontradas em aves domésticas são reportadas nas ordens dos Anseriformes e Galliformes. A coccidiose em aves selvagens é também identificada frequentemente nestas duas ordens. Espécies de aves de outras ordens, tal como Passeriformes, são primeiramente infetadas com *Isospora* spp.. De um modo geral, *Eimeria* spp. são fortemente específicas para os respetivos hospedeiros, mas algumas espécies do género poderão parasitar múltiplos hospedeiros, normalmente relacionados taxonomicamente (Greiner, 2008; Yabsley, 2008b).

As espécies de *Avispora* são comumente encontradas em aves de rapina, sendo mais patogénicas quando se encontram em cativeiro, principalmente em animais jovens. (Krone & Cooper, 2002; Samour, 2006b; Krone, 2007). Existem mais de 25 espécies de *Avispora* identificadas em aves (Yang, Brice & Ryan, 2014) e 15 espécies estão caracterizadas morfológicamente em rapinas (Schuster *et al.*, 2016). Pouco se sabe acerca da sua distribuição em aves de vida livre (Yang *et al.*, 2014). Cardozo *et al.* (2016) tornaram a descrever, em Portugal, uma nova espécie encontrada em *Falco tinnunculus*, *Avispora peneireiroi* n. sp.,

sendo a quarta espécie de *Avispora* descrita nesta ave. Em 2017, os mesmos investigadores descreveram, mais uma vez em Portugal, *Avispora galegoi* n. sp., tendo como hospedeiro *Athene noctua*, sendo também a quarta espécie a ser identificada em Strigiformes (Cardozo *et al.*, 2017).

2.3.1.2. Ciclo de vida

A grande maioria das espécies da família Eimeriidae apresenta ciclo de vida direto e são transmitidos por via fecal-oral que envolve a ingestão dos oocistos infetantes (Greiner, 2008; Yabsley, 2008b).

O desenvolvimento no interior do hospedeiro inclui estádios sexuais e assexuais que acontecem nas células epiteliais. Quando ingeridos por um hospedeiro viável, o oocisto rompe e os esporozoítos são libertados no trato intestinal onde vão invadir as células epiteliais da mucosa e formar trofozoítos; estes aumentam de tamanho e transformam-se em merontes (ou esquizontes) de 1ª geração que, através de reprodução assexuada (merogonia ou esquizogonia), produzem merozoítos de 1ª geração. Os merozoítos formados libertam-se e invadem as células vizinhas, produzindo merontes de 2ª geração e, consequentemente, merozoítos de 2ª geração; poderão ocorrer várias gerações merogónicas (Greiner, 2008; Bowman, 2014b), o que difere entre espécies (Greiner, 2008). Os merozoítos da última geração invadem outras células epiteliais e iniciam a fase sexual do ciclo de vida (gametogonia); durante esta fase formam-se macrogamontes ou macrogametócitos (células sexuais femininas) e microgamontes ou microgametócitos (células sexuais masculinas). Os macrogamontes aumentam de tamanho e transformam-se em macrogâmetas, enquanto que nos microgamontes ocorre divisão nuclear e tornam-se multinucleados, dando origem a vários microgâmetas biflagelados. Estes microgâmetas abandonam as células, vão fertilizar os macrogâmetas e formar zigotos; desenvolve-se uma parede (ou capa) externa e transforma-se num oocisto não-esporulado que acaba por ser eliminado nas fezes. Os oocistos têm que passar pelo processo de esporulação a fim de se tornarem infetantes; desta forma, sob a influência de fatores abióticos, ocorre reprodução assexuada (esporogonia) em meio ambiente formando-se, em cada oocisto, esporocistos contendo esporozoítos, sendo que o número de ambos é diferente mediante a espécie a que pertence (Greiner, 2008; Bowman, 2014b).

O género *Avispora*, tal como descrito acima, difere dos outros géneros da família Eimeriidae por determinadas espécies apresentarem um ciclo heteroxeno facultativo. Neste caso, se o oocisto for ingerido por um roedor dar-se-á um ciclo com estádios quer assexuais, quer sexuais e, por esta mesma razão, estes hospedeiros poderão ser considerados como hospedeiros secundários ao invés de hospedeiros intermediários. No hospedeiro secundário, após a

libertação dos esporozoítos no trato intestinal, estes migram para vários tecidos extra-intestinais, tais como nariz, bochecha, língua, orelha, cauda, escroto e patas; nestes mesmos tecidos, após multiplicação sexual e assexual (esquizogonia e gametogonia, tal como ocorre no HD ou primário), vai dar-se a formação de um oocisto estruturalmente diferente dos que se formam nos hospedeiros definitivos: sem uma verdadeira capa à volta do esporocisto e com uma parede fina a cobrir o oocisto (Lindsay & Todd, 1993), sendo que os esporozoítos são facilmente libertados (Upton *et al.*, 1986). Ocorre a esporulação *in situ* e os esporozoítos formados libertam-se, penetram células adjacentes e formam um cariocisto, isto é, uma célula esférica que é frequentemente monozóica (Upton *et al.*, 1986; Lindsay & Todd, 1993; Koudela *et al.*, 2000; Modrý, Šlapeta & Koudela, 2005) sendo que, no entanto, poderá apresentar entre dois a cinco esporozoítos (Lindsay & Todd, 1993); trata-se de um estágio “dormente”, onde não ocorre qualquer tipo de reprodução (Upton *et al.*, 1986; Lindsay & Todd, 1993). Este cariocisto é infetante para hospedeiros primários e secundários e a infeção acontece de maneira idêntica à ingestão de oocistos; normalmente são ingeridos quer por canibalismo, quer por predação (Lindsay & Todd, 1993).

2.3.1.3. Sinais Clínicos

Aves que eliminam oocisto de espécies entéricas de *Isospora* não demonstram sinais clínicos evidentes (Greiner, 2008).

A maior parte das aves infetadas com *Eimeria* sp. intestinal normalmente não exhibe nenhum sinal clínico porque as infeções de baixa intensidade destroem um número limitado de células epiteliais que podem ser substituídas rapidamente. Já em infeções de intensidade moderada e alta, um grande número de células são destruídas, levando à redução da ingestão de alimento e água, diminuição da absorção intestinal e hemorragia.

Aves afetadas exibem, às vezes, diarreia sanguinolenta ou mucosa, falta de apetite, emaciação, falta de coordenação, penas eriçadas e diminuição da produção de ovos (Yabsley, 2008b). Estados avançados da doença podem levar a anorexia e morte (Muller, 2010).

Sob determinadas circunstâncias, que incluem idade do hospedeiro, *stress*, ausência de infeções anteriores, doenças concomitantes ou imunossupressão, algumas espécies de *Eimeria* que normalmente não causam doença, poderão produzir efeitos patogénicos e causar coccidiose. No entanto, geralmente, as espécies de *Eimeria* raramente causam doença em aves (Yabsley, 2008b).

Aves parasitadas por *Avispora* spp. apresentam, normalmente, perda de peso, redução do apetite, regurgitação e/ou vômito, diarreia, fezes hemorrágicas e morte súbita (Krone & Cooper,

2002; Samour, 2006b); alto grau de parasitismo pode levar a supressão do sistema imunitário e dar origem a infecções secundárias (Muller, 2010).

2.3.1.4. Tratamento e Controle

Muito do que está descrito sobre tratamento ou controle de coccidiose em aves provém de estudos sobre *Eimeria* em aves domésticas e coleções zoológicas.

O uso de coccidiostáticos de administração oral, como o toltrazuril, tem sido o primeiro método de controle da coccidiose para produtores de aves domésticas (Yabsley, 2008b). Para infecções por *Isospora* entérica, o tratamento sugerido será o uso de trimetoprim-sulfametoxazol (Greiner, 2008). Nos últimos anos, tem sido documentada alguma resistência a muitos anti-coccídios comumente utilizados (Yabsley, 2008b). O tratamento que tem sido considerado mais eficaz e seguro em parasitoses por *Avispora* spp. é a administração oral de toltrazuril (Krone & Cooper, 2002; Samour, 2006b; Muller, 2010). Em infecções extensas é recomendada a utilização de multivitamínicos e probióticos após o tratamento por forma a restaurar a flora intestinal (Muller, 2010).

A redução populacional de aves no mesmo espaço e a redução do *stress* em cativeiro poderão ser as medidas mais eficazes para diminuir ou prevenir surtos de coccidiose (Yabsley, 2008b). Também se poderá utilizar como método preventivo, em cativeiro ou centros de recuperação, estruturas em rede de metal e elevadas do solo (Greiner, 2008).

2.3.2. *Cryptosporidium*

O género *Cryptosporidium* pertence ao *infraphylum* Apicomplexa onde, mais recentemente, foi transferido para a classe Gregarinomorpha, subclasse Cryptogregarina e ordem Cryptogregarida, mantendo-se na família Cryptosporidiidae (Cavalier-Smith, 2014; Universal Taxonomic Service, 2016). Dados microscópicos, moleculares, genómicos e bioquímicos vieram suportar a sua similaridade com as gregarinas e permitiram formalizar a sua transferência (Ryan, Paparini, Monis & Hijjawi, 2016). Desenvolve-se nas microvilosidades das células epiteliais do sistema digestivo, podendo ocorrer também nos sistemas respiratório e urinário de vertebrados (Mihalca, 2013). Apresenta localização epicelular e está descrito por apresentar um organelo *gregarine-like* para se suportar e alimentar, através de um processo denominado mizocitose, e pela ausência de apicoplasto (Aldeyarbi & Karanis, 2015; Ryan, Paparini, Monis & Hijjawi, 2016; Thompson, Koh & Clode, 2016). O estágio mais importante no diagnóstico é o oocisto. A sua forma é normalmente esférica e são muito pequenos, entre 4.3 x 4.9 µm - 8.3 x 6.3 µm (Zhu, Enomoto, Fritzler, Abrahamsen & Templeton, 2009). Cada

oocisto esporulado contém quatro esporozoítos livres pois não contém esporocisto (Gardine, Payer & Dubey, 1988; Smith & Nichols, 2007; Mihalca, 2013).

Estão documentadas três espécies válidas do género *Cryptosporidium* que infectam aves: *Cryptosporidium meleagridis*, *C. baileyi* e *C. galli* (Reboredo-Fernández *et al.*, 2015). Fayer e Hungar (1986), tal como Lindsay e Blagburn (2008), fazem referência às espécies *C. tyzzeri* presente em galinhas e perús e *C. anserinum* no ganso doméstico (Lindsay & Blagburn, 2008), mas estas já não são consideradas válidas por terem sido descritas inadequada e erroneamente (Xiao & Cama, 2006; Lindsay & Blagburn, 2008), quando se pensava que *Cryptosporidium* tinha uma alta especificidade de hospedeiro e que não era transmitido de espécie para espécie (Xiao & Cama, 2006).

2.3.2.1. Distribuição e Hospedeiros

C. baileyi é a mais frequente espécie diagnosticada em aves e reportada em 12 ordens diferentes, sendo que a ordem dos Galliformes é a mais comumente representada. Já *C. galli* tem sido observada em cinco ordens distintas e as mais representativas são as dos Passeriformes e dos Psittaciformes. *C. meleagridis*, tal como *C. baileyi*, é encontrado preferencialmente em Galliformes mas foi reportado em quatro ordens (Nakamura & Meireles, 2015).

2.3.2.2. Ciclo de Vida

O ciclo de vida de *Cryptosporidium* é directo e monóxico e inclui estádios endógenos e exógenos. Todas as formas demonstram ciclos sexuado e assexuado no mesmo hospedeiro. O desenvolvimento endógeno inicia-se quando os oocistos esporulados são ingeridos pelo hospedeiro (que poderá ocorrer através de água ou alimentos contaminados (ou inalados (Forbes, 2008)) (Lindsay & Blagburn, 2008). No trato digestivo, através de uma “sutura” existente na parede do oocisto, os quatro esporozoítos libertam-se e, por um processo particular de mobilidade denominado “*gliding*”, vão fixar-se na superfície do epitélio das microvilosidades intestinais (ou noutra localização extra-intestinal); esta localização foi recentemente caracterizada por epicelular, o que leva a refutar a ideia de que *Cryptosporidium* seria um parasita intracelular (Karanis & Aldeyarbi, 2011). Aquando desta fixação, forma-se um vacúolo parasitóforo que se torna altamente invaginado na célula do hospedeiro e transforma-se num organelo (Zhu *et al.*, 2009), denominado epimerite e característico das gregarinas, através do qual obtém nutrientes do hospedeiro por um processo designado mizocitose, já referido anteriormente (Ryan *et al.*, 2016). O esporozoíto cresce, transforma-se num trofozoíto e entra em reprodução assexuada (merogonia) até se transformar num meronte multinucleado do tipo I; cada núcleo desenvolve-se num merozoíto tipo I que, após maturação,

vai invadir outras células epiteliais e inicia-se um ciclo adicional de merogonias do tipo I ou desenvolvem-se em merontes de tipo II. Estes últimos irão produzir quatro merozoítos do tipo II que penetram as microvilosidades e diferenciam-se em estádios sexuais (gametogonia). Os estádios masculinos são os microgamontes e produzem microgametas não flagelados e os estádios femininos são os macrogamontes; a fertilização ocorre e são produzidos, novamente, oocistos de dois tipos diferentes que esporulam endogenamente: oocistos de parede fina que são auto-infetantes e oocistos de parede mais grossa que são excretados nas fezes e preservam a sua capacidade infetante por vários meses (Lindsay & Blagburn, 2008; Karanis & Aldeyarbi, 2011).

Se os esporozoítos ou os merozoítos atingem células epiteliais dos tratos respiratório, urinário ou saco conjuntival, então o seu desenvolvimento ocorre nesses locais (Lindsay & Blagburn, 2008). Estudos recentes vieram corroborar a ideia de que *Cryptosporidium* não necessita de células do hospedeiro para completar o seu ciclo de vida. Hijjawi *et al.* (2004) descreveram, pela primeira vez, o desenvolvimento completo de *Cryptosporidium parvum* em meio de cultura ausente de células, com a presença de todos os seus estádios de desenvolvimento - merogonia, gametogonia, esporogonia – e os novos estádios extracelulares *gamont-like*. Pesquisas posteriores, nomeadamente as de Aldeyarbi e Karanis (2011, 2015, 2016), reforçam a tese de que *Cryptosporidium* tem a capacidade de se desenvolver e multiplicar sem a necessidade de células do hospedeiro e que existem muitas similaridades com as gregarinas, designadamente nos estádios extracelulares e nas suas características ultra-estruturais (Rosales, Córdón, Moreno, Sánchez & Mascaró, 2005; Aldeyarbi & Karanis, 2015); tal como foi demonstrado, também, pelas observações *in vitro* efetuadas por Rosales *et al.* (2005) e Aldeyarbi e Karanis (2015, 2016), durante o ciclo de vida de *Cryptosporidium parvum*, o emparelhamento (latero-lateral, latero-caudal e caudal-caudal) de estádios extracelulares, tal como gamontes, num processo denominado *syzygy*, que é outra das características pertencentes às gregarinas.

2.3.2.3. Sinais Clínicos

Segundo Nakamura e Meireles (2015), estudos realizados em aves demonstram que a infecção por *Cryptosporidium* está frequentemente associada ao trato gastrointestinal e respiratório; no entanto, há evidências da colonização de outros tecidos pelo parasita, em infeções clínicas ou subclínicas, nomeadamente a bolsa de Fabricius, conjuntiva ocular, ouvido médio, pâncreas e rins.

As infeções por *C. meleagridis*, mais comum em perús, manifestam-se principalmente sob a forma de enterite e os sinais clínicos caracterizam-se por perda de peso, diarreia, distensão abdominal por gás e muco. Por outro lado, *C. baileyi* é, mais comumente, agente etiológico

de infecções do sistema respiratório, ouvido médio e conjuntiva ocular; também poderá afetar a bolsa de Fabricius (Nakamura & Meireles, 2015). Os sintomas respiratórios incluem espirros, tosse e dispneia (Lindsay & Blagburn, 2008). *C. galli* parasita o proventrículo e está associado a infecções gástricas e proventriculite crônica, o que predispõe a infecções secundárias por outros agentes patogénicos; os sintomas mais frequentes são apatia, diarreia, perda de peso (Nakamura & Meireles, 2015), diminuição do crescimento e alteração da plumagem (Mihalca, 2013). A mortalidade é rara e, quando surge, está associada a co-infecções com outros agentes patogénicos (Mihalca, 2013).

2.3.2.4. Tratamento e Controlo

De acordo com Nakamura e Meireles (2015), apesar da halofuginona ter mostrado alguma eficácia, não há uma substância efetiva comprovada no tratamento e profilaxia da criptosporidiose. Já Lindsay e Blagburn (2008) afirmam que a enrofloxacina possui alguma eficácia e a paromomicina reduz a libertação de oocistos em 67 a 82% e tem um efeito positivo no ganho de peso.

Em zoos ou centros de recuperação os métodos de controlo poderão ser bastante úteis na prevenção de infecções. Nalguns estudos efetuados, os compostos de amónia foram eficazes quando usados com uma concentração de 50%, em que menos de 5% de oocistos permaneceram viáveis. Uma concentração idêntica de lixívia foi de alguma forma eficaz, dado que a concentração de oocistos viáveis foi, neste caso, menor que 15% (Lindsay & Blagburn, 2008). A criptosporidiose, tal como muitas infecções parasitárias, é uma doença de animais confinados a pequenos espaços e em grande número; portanto, qualquer programa de manejo higio-sanitário que diminua o número de aves por área e a sua exposição aos oocistos, irá diminuir a probabilidade de transmissão do parasita (Lindsay & Blagburn, 2008). Devem ser tomadas como medidas a prevenção e controlo de doenças concomitantes que estão normalmente associadas à criptosporidiose (Nakamura & Meireles, 2015). A utilização de probióticos poderá ser importante para restaurar a flora intestinal no caso de infecções entéricas (Muller, 2010).

2.3.3. *Giardia*

De acordo com a nova sistemática baseada em dados genéticos, estruturais e bioquímicos, por Cavalier-Smith (2003), *Giardia* pertence ao *phylum* Metamonada, *subphylum* Trichozoa, superclasse Eopharyngia, classe Trepomonadea, subclasse Diplozoa, ordem Giardiida e família Giardiidae (Plutzer, Ongerth & Karanis, 2010; Thomson & Monis, 2012). As espécies do género *Giardia* possuem dois estádios de desenvolvimento: um endógeno- trofozoíto- e um exógeno – quisto. Os trofozoítos são piriformes; o seu corpo é achatado dorsoventralmente e

convexo (na parte dorsal) sendo que na superfície ventral possui um disco que permite a sua aderência às células do hospedeiro (Mihalca, 2013); têm forma de gota e apresentam dois núcleos, cada um com um endossoma. Outras estruturas subcelulares incluem dois axonemas, quatro pares de flagelos e um par de corpos mediais. Todos os outros flagelados intestinais encontram-se no ceco e cólon, mas os do gênero *Giardia* parasitam o intestino delgado, onde os trofozoítos aderem às células da mucosa intestinal; estes formam quistos, na sua grande maioria, antes de serem excretados pelas fezes do hospedeiro infetado (Bowman, 2009). Os trofozoítos também poderão ter capacidade infetante, tal como foi demonstrado experimentalmente em ratos. No entanto, e dado o seu reduzido tempo de sobrevivência no meio ambiente, só aconteceria em circunstâncias onde fossem excretadas grandes quantidades dos mesmos em episódios diarreicos, levando à contaminação de indivíduos ou superfícies em instalações onde exista um elevado número de animais. Portanto, pelo referido anteriormente, o quisto é o estágio mais importante de transmissão (Thomson & Monis, 2012). Estes medem, normalmente, entre 8-12 μm x 7-10 μm , com 2-4 núcleos e estruturas internas que correspondem aos axonemas dos flagelos e a corpos mediais (Mihalca, 2013).

De acordo com a morfologia dos trofozoítos e / ou quistos, são reconhecidas duas espécies que utilizam aves como hospedeiros: *Giardia ardeae* e *Giardia psittaci* (Reboredo-Fernandez *et al.*, 2015; Cano *et al.*, 2016). Para além destas duas espécies, *Giardia duodenalis* (*syn Giardia lamblia*, *Giardia intestinalis*) também tem sido reportada em aves (Cunha, Cury & Santín, 2016).

2.3.3.1. Distribuição e Hospedeiros

Os representantes do género *Giardia* têm sido observados em Psittaciformes, assim como em algumas espécies de aves aquáticas, rapinas e Passeriformes, tal como pode ser evidenciado num estudo efetuado na Galiza sobre a ocorrência de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. em aves selvagens (Reboredo-Fernández, 2015). Já num estudo realizado em aves de cativeiro por Cunha *et al.* (2016), no Brasil, foi reportada a presença de *Giardia* sp. em Piciformes.

2.3.3.2. Ciclo de vida

Após a ingestão dos quistos infetantes, ocorre a libertação dos trofozoítos no intestino delgado: um trofozoíto emerge do quisto quadrinucleado e passa por divisão citoplasmática dando origem a dois trofozoítos binucleados (Smith & Paget, 2007); estes nadam através de movimentos rotacionais e vão aderir à superfície dos enterócitos da mucosa, através do disco ventral, onde vão permanecer. Dá-se, então, multiplicação por divisão binária e o trofozoíto atinge maturidade após três divisões celulares. À medida que os trofozoítos se movimentam

para o colón e o conteúdo intestinal se torna desidratado, os espécimes de *Giardia* começam o processo de enquistamento; os quistos vão ser eliminados através das fezes (Mihalca, 2013) e, segundo Thomson e Monis (2012), apesar da maioria dos autores considerar que estes são imediatamente infetantes após serem excretados, existem evidências de que alguns quistos passam por um período de maturação até sete dias antes de se tornarem infetantes. O período pré-patente é geralmente entre 3 e 10 dias e a libertação dos quistos pode ocorrer continuamente durante vários dias, mas é normalmente intermitente (Patton, 2016).

A transmissão ocorre por via fecal-oral, por contacto direto com um hospedeiro infetado ou através de um meio contaminado. A humidade facilita a sobrevivência dos quistos (Patton, 2016), podendo sobreviver até três semanas (Zucca, 2000) e a sobrepopulação favorece a transmissão do parasita (Patton, 2016).

De acordo com Monis, Caccio e Thompson (2009) e Thompson e Monis (2012), apesar da reprodução de *Giardia* sp. ter vindo a ser considerada assexuada por divisão binária, existem evidências, em estudos genéticos e epidemiológicos, da sua capacidade de se reproduzir sexualmente. Ramesh, Malik e Logsdon (2005) analisaram e identificaram a presença de genes meióticos em *G. intestinalis*, o que evidencia e reforça esta ideia.

2.3.3.3. Sinais clínicos

Apesar de muitas infeções por *Giardia* serem assintomáticas, o parasita poderá causar diarreia crónica recorrente e mucoide, debilidade, letargia, anorexia e perda de peso (Zucca, 2000). Penugem em mau estado (auto-mutilação) também está descrito como sintoma associado à infeção (Muller, 2010).

2.3.3.4. Tratamento e Controlo

LaMann (2010) sugere que o tratamento da giardiose poderá ser efetuado com metronidazol ou nitrofurazona, na água de bebida, num mínimo de cinco dias. Poderá utilizar-se também dimetridazol (Bowman, 2009).

O controlo de *Giardia* sp. pode ser realizado através da remoção frequente das fezes dos espaços onde os animais se encontram confinados com desinfecção subsequente (Patton, 2016), prevenção da contaminação fecal dos comedouros e bebedouros e saneamento do ambiente (Bowman, 2009). Os quistos são inativados pela maioria dos compostos de amónio quaternário e vapor de água à pressão (Patton, 2016).

A utilização de probióticos, tal como para a criptosporidiose, poderá ser utilizada com a finalidade de restaurar a flora intestinal (Muller, 2010).

3. Hemoparasitas Protozoários

Os Haemosporidia (Sporozoa: Haemosporida), são protozoários heteroxenos obrigatórios que utilizam insetos dípteros sugadores como vetores. Nas aves são descritos três gêneros principais – *Haemoproteus*, *Plasmodium* e *Leucocytozoon*- que compreendem cerca de 206 espécies e 16 gêneros de insetos vetores (Valkiūnas, 2005; Mata, 2012).

- Gênero *Plasmodium*

Os membros deste gênero são classificados como pertencentes ao filo Apicomplexa, classe Aconoidasida, ordem Haemospororida, família Plasmodiidae. Partilham características morfológicas e desenvolvimento idêntico aos gêneros *Haemoproteus* e *Leucocytozoon*, mas distinguem-se pela presença de reprodução assexuada (merogonia ou esquizogonia) intraeritrocitária. Produzem grânulos acastanhados ou dourados pela digestão da hemoglobina do hospedeiro (grânulos de hemozoína). As espécies de *Plasmodium* que afetam aves estão divididas em cinco subgêneros baseado na morfologia dos gametócitos e merontes circulantes e na preferência por eritrócitos maduros ou imaturos, sendo que mais de 40 espécies estão reconhecidas (Atkinson, 2008a). Os gametócitos de *Plasmodium* costumam ser irregularmente redondos, alongados, em forma de “U” ou “V”, com um núcleo central, redondo e anfofílico, e citoplasma basófilo que contém vários grânulos pigmentares de coloração preto-acastanhada (Clark, Boardman & Raidal, 2009); provoca, frequentemente, um deslocamento do núcleo dos eritrócitos (Muller, 2010).

- Gênero *Haemoproteus*

Os membros deste gênero são classificados no filo Apicomplexa, classe Aconoidasida, ordem Haemospororida, família Plasmodiidae. São definidos pelo seu desenvolvimento intraeritrocitário, produção de grânulos de pigmentação preta ou acastanhada pela digestão da hemoglobina do hospedeiro e a ausência de reprodução assexuada nas células sanguíneas. Todas as espécies são distinguidas pela morfologia dos gametócitos circulantes, a sua especificidade de hospedeiro e pelas alterações distintas na morfologia dos eritrócitos. São reconhecidos cinco tipos morfológicos de gametócitos que diferem na morfologia (arredondada ou alongada) e a forma como circundam o núcleo do eritrócito (Atkinson, 2008b).

- Gênero *Leucocytozoon*

Os protozoários deste gênero são classificados como pertencentes ao filo Apicomplexa, classe Coccidea, subclasse Coccidia, ordem Haemosporida e família Leucocytozoidae. A descrição das espécies leucocitozóides tem sido baseada principalmente na morfologia dos gametócitos nas células sanguíneas, que é bastante evidente, podendo ser redonda ou alongada (Forrester & Greiner, 2008).

Ao contrário dos gêneros *Plasmodium* e *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* não produz grânulos pigmentares (Muller, 2010).

3.1 Distribuição e Hospedeiros

Cerca de 45% das aves da fauna mundial já foram analisadas para pesquisa de hemosporídeos. *Plasmodium* e *Leucocytozoon* são encontrados em aproximadamente 30% das espécies de aves e *Haemoproteus* em 50% (Valkiūnas, 2005). Estes hemoprotozoários têm sido reportados em todo o mundo, com exceção da Antártida, onde as temperaturas demasiado baixas não permitem a ocorrência de vetores (Friend & Franson, 1999a).

As ordens onde são encontradas um maior número de espécies de hemosporídeos pertencem aos Passeriformes (86 espécies) e Galliformes (33 espécies), que merecem maior destaque, seguindo-se os Columbiformes, Coraciiformes e Piciformes (Valkiūnas, 2005).

Os membros de algumas famílias aparentam ser mais suscetíveis que outras. Por exemplo, patos, gansos e cisnes são comumente infetados com espécies de *Haemoproteus*, *Leucocytozoon* e *Plasmodium* e mais de 75% das espécies de aves aquáticas que foram analisadas eram hospedeiros de um ou mais destes parasitas. Perús selvagens são normalmente infetados e pombos e rolas têm elevadas percentagens de parasitismo, ao contrário de membros de outras famílias, tal como as limícolas, que apresentam valores mais baixos (Friend & Franson, 1999a).

Diferenças na prevalência, distribuição geográfica e leque de hospedeiros estão associados com preferências no habitat, na abundância e hábitos alimentares dos vetores e nas diferenças fisiológicas inatas que tornam uns hospedeiros mais suscetíveis que outros. Aves jovens são mais suscetíveis que as adultas e a mortalidade mais exacerbada ocorre nas primeiras semanas de vida. É também nestas alturas que o aumento da temperatura favorece o aumento de populações de insetos vetores e, atendendo a que a Primavera/Verão coincide com o nascimento das crias, ocorre consequentemente maior número de animais suscetíveis (Friend & Franson, 1999a).

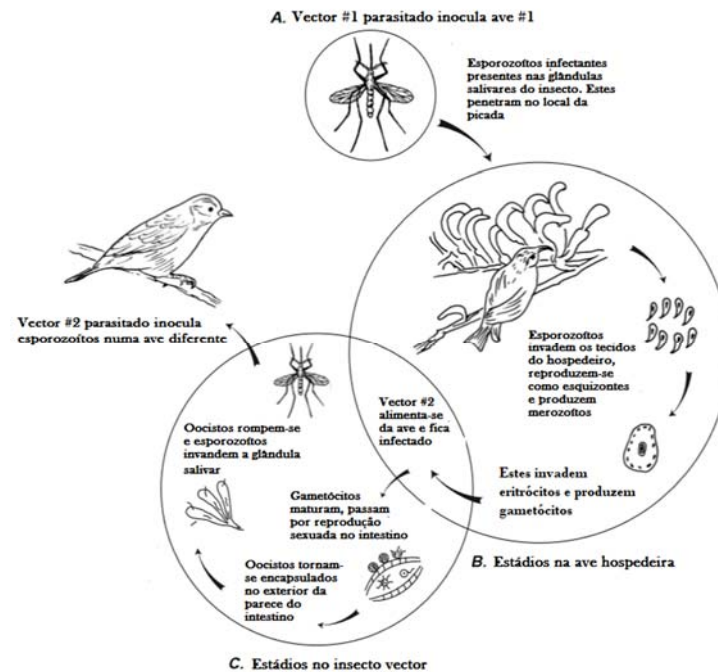
3.2 Ciclo de Vida

Os Haemosporidia, como referido anteriormente, são parasitas heteroxenos obrigatórios, pois necessitam de dois hospedeiros para completarem o seu ciclo de vida: um HD, que é representado por um insecto e que funciona como vetor para o HI; e um HI que, neste caso, é uma ave (Mata, 2012). O género *Plasmodium* utiliza mosquitos vetores da família Culicidae; *Haemoproteus* tem como vectores moscas das famílias Ceratopogonidae e Hippoboscidae e Simuliidae é a família hospedeira para *Leucocytozoon*. Os três géneros parasitários têm ciclos

de vida semelhantes com diferenças durante a fase assexual no sangue periférico do hospedeiro vertebrado: *Plasmodium* tem capacidade para se reproduzir assexuadamente (merogonia) nas células sanguíneas, o que não acontece nos outros géneros (Santiago-Alarcon, Palinauskas & Schaefer, 2012).

Os estádios infetantes do parasita, os esporozoítos, são encontrados nas glândulas salivares dos vetores. Os esporozoítos penetram nos tecidos e corrente sanguínea de um novo hospedeiro aquando do momento da “picada” pelo inseto, sendo que são transmitidos pela sua saliva. Frequentemente alimentam-se em locais onde há pele exposta, nomeadamente nas zonas periocular, no bico, nas pernas e patas; no entanto alguns insetos migram nas penas até chegar à superfície da pele (Friend & Franson, 1999a). Imediatamente após infetarem o hospedeiro, os esporozoítos invadem os tecidos e transformam-se em merontes (ou esquizontes), os quais vão sofrer reprodução assexuada (merogonia) e reproduzir-se em uma ou mais gerações antes de se tornar merozoítos; no caso de *Plasmodium* spp., a merogonia é de carácter exo-eritrocitário e eritrocitário, enquanto nos géneros *Haemoproteus* e *Leucocytozoon* ocorre apenas em tecidos e não nas células sanguíneas, como já foi mencionado anteriormente. Os merozoítos, por sua vez, penetram os eritrócitos e amadurecem transformando-se em gametócitos (estádios sexuais) nos três géneros parasitários, embora seja a única forma de desenvolvimento hemático nos ciclos de *Haemoproteus* sp. e *Leucocytozoon* sp; no entanto, *Leucocytozoon* tem a capacidade para utilizar leucócitos mononucleares para o desenvolvimento destes estádios sexuais. O ciclo completa-se quando os gametócitos em circulação (nos eritrócitos) são ingeridos por outro inseto sugador, onde sofrem reprodução sexuada (gametogonia) e assexuada (esporogonia) a fim de produzir uma grande quantidade de esporozoítos. Estes invadem as glândulas salivares do vetor e são transmitidos a um novo hospedeiro intermediário quando o inseto voltar a alimentar-se (Friend & Franson, 1999a; Valkiūnas, 2005; Mata, 2012).

Figura 1. Ciclo de vida dos hemosporídeos.



Legenda: A) Inseto parasitado infecta ave hospedeira através de picada. Diferentes estádios infecciosos e de desenvolvimento ocorrem em B) no hospedeiro e em C) nos insectos vectores. Adaptado de Friend & Franson (1999a).

3.3. Sinais Clínicos

Aves com infeções agudas poderão exibir sintomatologia similar que inclui: emaciação, falta de apetite, apatia, dificuldade respiratória, fraqueza e claudicação uni ou bilateral (Friend & Franson, 1999a). Os indivíduos que sobrevivem à infeção aguda desenvolvem infeções crónicas, persistentes e de baixa intensidade, que são controladas pela imunidade adquirida durante a fase aguda (Marzal, 2012). Estes não exibem quaisquer sinais de doença, mas servem como reservatórios, ou portadores são com capacidade infecciosa, que permitem que o parasita sobreviva em condições ambientais desfavoráveis onde as populações de vetores estão ausentes (Friend & Franson, 1999a). Mesmo quando o hemoparasitismo não acarreta consequências significativas para o hospedeiro, poderá assumir grande relevância quando a imunidade é baixa; pode não se expressar em forma de sinais clínicos, mas interferir na forma física e sucesso reprodutivo (Clark *et al.*, 2009). Marzal (2012) afirma que estes parasitas produzem efeitos negativos ao nível da condição corporal pois causam reduções dramáticas na eficiência do metabolismo. Relativamente à influência no sucesso reprodutivo, num estudo elaborado por Marzal *et al.* (2005), demonstrou-se que aves tratadas para *Haemoproteus*, em que ocorreu redução na intensidade parasitária, possuíam ninhadas maiores e aumento na eclosão dos ovos e na produção de penas pelas crias, ao contrário das aves não tratadas; este facto evidencia a influência de infeções extensas pelo parasita em parâmetros relacionados com o sucesso

reprodutivo. Marzal (2012) explica, através de um estudo realizado por outros investigadores em que relacionam a infecção parasitária com a resposta ao *stress* numa população de aves selvagens, que os hemoparasitas também podem ser uma fonte potencial de *stress* fisiológico.

3.4. Tratamento e Controlo

A prevenção da hemosporidiose baseia-se no isolamento das aves por forma a não contactarem com os vetores, ou na redução ou eliminação dos mesmos, cujo período de maior atividade é durante a época mais quente (Valkiūnas, 2005). Muitas das técnicas que foram desenvolvidas para controlar o vetor transmissor de *Plasmodium* em humanos, poderá ser usado com eficácia para os das aves, mas existem poucos recursos para serem aplicadas em grandes áreas. A maioria das técnicas assenta no manejo do habitat a fim de reduzir os locais de reprodução dos vetores ou controlar e/ou reduzir a população dos mesmos, em fase larvar ou adultos (Friend & Franson, 1999a). O controlo biológico de mosquitos vetores é considerado um método eficaz e preferencial de prevenção da hemosporidiose devido aos efeitos adversos dos inseticidas, à resistência adquirida a estes agentes (Kamatchi, Arivoli & Maheswaran, 2015) e aos problemas de saúde e ambientais que deles advêm (Brahman & Chandra, 2016). Kamatchi *et al.* (2015) e Brahman e Chandra (2016) constataram que determinadas espécies de peixes, nomeadamente larvívoras, são eficazes no controlo de *Culex* sp., pois alimentam-se das suas larvas, reduzindo substancialmente a população de vetores. Tratamentos em larga-escala de aves infetadas sobreviventes poderão prevenir os surtos da doença pela diminuição da fonte de infecção (Friend & Franson, 1999a).

No tratamento químico de *Plasmodium* tem sido utilizada medicação para a malária humana: compostos de fosfato de cloroquina, fosfato de primaquina, combinações pirimetamina-sulfadoxina e atovaquona-proguanil e mefloquina têm sido eficazes. Fluidoterapia de suporte também é benéfica (Atkinson, 2008a; Muller, 2010). Em *Haemoproteus* destacam-se a atebrina, o sulfato de cloroquina, a primaquina e a mefloquina, assim como a buparvaquona. Já em *Leucocytozoon* tem sido eficaz a pirimetamina e a combinação desta com sulfamonometoxina quando administradas na alimentação. Aves aquáticas e rapinas em cativeiro também têm obtido resultados satisfatórios quando tratadas com derivados de quinina, atebrina, trimetoprim e sulfametoxazole, e melarsomina (Atkinson, 2008b; Forrester & Greiner, 2008).

4. Impacto em populações selvagens

A informação relativa ao impacto que os parasitas têm em populações selvagens é pouco consistente e apresenta muitas lacunas pela dificuldade em apresentar estudos e conclusões viáveis. Isto acontece por variadas razões, nomeadamente: insuficiente informação acerca dos

hospedeiros, o que faz com que ocorra frequentemente extrapolação a partir de outras espécies; a necessidade e dificuldade em determinar efeitos a longo-prazo em ambiente selvagem e realizar estudos retrospectivos e prospectivos; amostragem não representativa do estado atual da natureza; dificuldade em determinar parâmetros importantes em animais selvagens, tais como a idade ou o sexo (Wobeser, 2008).

Para além do que foi referido anteriormente, existem obstáculos ao estudo exaustivo do impacto em populações, relacionados com a própria interação parasita-hospedeiro, designadamente: os efeitos do parasitismo serem indetetáveis e os sinais clínicos, quando presentes, serem pouco específicos; mesmo que detetáveis, os efeitos poderão ser toleráveis pelo hospedeiro sem consequências negativas; o prejuízo pode ser camuflado por outros fatores regulatórios populacionais, como a predação e competição; o mesmo hospedeiro estar infetado por vários parasitas o que dificulta a exatidão no diagnóstico e na aferição das consequências, resultando numa associação causa-efeito medíocre (Wobeser, 2008).

Associado a estes factos, e sabendo que o prejuízo causado pela maioria das espécies parasitárias não é evidente, ocorrendo de forma benigna, pode, em muitas situações, contribuir mesmo para o equilíbrio populacional. Tal acontece porque o potencial de transmissão, sendo dependente da densidade populacional, sofre uma redução com a crescente mortalidade dos hospedeiros, devido à diminuição dos indivíduos infetados e quiçá menos resistentes a estes agentes (Hudson, 1998; Krone & Cooper, 2002). Outra das causas que contribuem para a redução da transmissão, e talvez das mais importantes, é o facto da infeção parasitária poder tornar os indivíduos mais suscetíveis à predação, reduzindo assim o número de hospedeiros vertebrados disponíveis (Krone & Cooper, 2002).

No entanto, sabe-se que, em muitos casos, o parasitismo pode levar à diminuição da condição corporal, ao insucesso reprodutivo (devido, por exemplo, a alterações físicas que desfavoreçam a escolha de determinados parceiros sexuais), à redução da produção de ovos e infertilidade, ao insucesso migratório e ao aumento da predação devido a uma maior suscetibilidade do hospedeiro, como referido anteriormente (Wobeser, 2008). Møller *et al.* (2013), numa pesquisa realizada em diferentes aves selvagens, comprovaram a relação entre o parasitismo e a diminuição da condição corporal e de parâmetros relacionados com a fecundidade. De igual forma, Coon *et al.* (2016) relataram o efeito negativo da infeção por *Plasmodium* em Passeriformes selvagens no crescimento das penas e na condição corporal.

As maiores taxas de mortalidade ocorrem em animais selvagens mantidos em cativeiro ou pertencentes a zoológicos, dado que as condições potenciam o desenvolvimento parasitário (Wobeser, 2008; Papini, Girivetto, Marangi, Mancianti & Giangaspero, 2011; Snak *et al.*, 2014), nomeadamente os efeitos do *stress*, a falta de higiene, a alimentação, as condições para

o desenvolvimento dos vetores, que muitas vezes incluem diversas coleções de água, e a área restrita em que se encontram que contribui para a eficiente disseminação do parasita (Cordón *et al.*, 2009; Snak *et al.*, 2014). A libertação de aves, mantidas em cativeiro e parasitadas, perpetuam as populações de parasitas na natureza (Millán, 2009) e a introdução humana de animais exóticos em ecossistemas nativos, assim como as aquisições para zoológicos através de *pet trade*, poderão contribuir para a disseminação mundial de determinadas espécies parasitárias (Wobeser, 2008).

5. Saúde Pública – *Waterborne Zoonosis*

A mobilidade das aves migradoras, associada à sua distribuição e capacidade para formar grandes colónias, faz com que sejam potenciais dispersores de agentes patogénicos. Devido ao seu fácil acesso a bacias hidrográficas e outras fontes de água, as aves selvagens são consideradas uma ameaça à sanidade das águas. Posto isto, e devido ao potencial zoonótico de *Cryptosporidium* e *Giardia*, as aves selvagens ganham alguma importância em termos de saúde pública, na medida em que a presença destes agentes patogénicos em fontes de água (quer bebível, quer para efeitos recreativos) tem causado numerosos surtos (Zahedi, Paparini, Jian, Robertson & Ryan, 2015). Neste sentido, e de acordo com estudos efetuados, principalmente as aves marinhas/aquáticas, desempenham um papel significativo na contaminação ambiental de habitats aquáticos (Majewska *et al.*, 2008).

Cryptosporidium é considerado um agente patogénico emergente no ramo da medicina aviária e um dos parasitas com maior prevalência em aves domésticas, em cativeiro e selvagens (Reboredo-Fernández, 2015). No entanto, das espécies reconhecidas em aves, apenas *C. meleagridis* costuma ocorrer em transmissões zoonóticas e tem sido reportada como umas das espécies de *Cryptosporidium* mais comuns em infeções humanas contraídas em águas residuais (Zahedi *et al.*, 2015). Vários estudos revelaram a presença de *C. parvum*, *C. hominis* e *Giardia duodenalis* em aves selvagens, o que sugere que estas também estão implicadas na disseminação destas espécies que infectam humanos, funcionando como hospedeiros reservatórios e vetores mecânicos (Graczyk, Majewska & Schwab, 2007; Majewska *et al.*, 2008). De acordo com Ryan *et al.* (2016), os estudos mais recentes que demonstram a capacidade do parasita em se desenvolver e multiplicar em biofilmes, tornam a contaminação das águas por *Cryptosporidium* uma questão ainda mais preocupante. A giardiose, por sua vez, apesar de não ser uma ameaça letal, tem um forte impacto na saúde pública. A sua grande capacidade de disseminação é promovida pela larga distribuição geográfica, grande espectro de hospedeiros e elevada prevalência em determinadas áreas; isto ocorre pela alta resistência dos quistos no meio ambiente e pela variedade e facilidade de transmissão (Mihalca, 2013).

IV. Rastreio parasitológico em Aves selvagens no RIAS

1. Objetivos

Este trabalho propõe-se aos seguintes objetivos:

- a) Rastreio parasitológico em diferentes espécies e grupos de aves ingressadas e mantidas num centro de recuperação de animais selvagens no sul de Portugal;
- b) Pesquisa de parasitas gastrintestinais e hemoparasitas e identificação das formas parasitárias assinaladas;
- c) Avaliação da prevalência parasitária em aves silvestres consideradas como hospedeiros sentinela, ainda que num centro de recuperação, e determinação da influência de fatores possivelmente relevantes na relação parasita-hospedeiro, nomeadamente: espécies parasita e hospedeira, grupo etário, habitat, estatuto fenológico, causa de ingresso e clima;
- d) Contribuir, de um modo geral, para um maior conhecimento da dinâmica parasitária em ambiente selvagem em Portugal, particularmente no sul.

2. Material e Métodos

Entre os meses de Maio e Outubro de 2012 foram colhidas amostras de fezes, de sangue periférico e realizados esfregaços fecais de aves selvagens que ingressaram ou que se encontravam internadas no Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa (RIAS), sediado no Parque Natural da Ria Formosa em Olhão, Portugal. Todas as amostras foram colhidas e processadas *in situ*, com exceção da coloração e observação dos esfregaços fecais para pesquisa de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp., que foram realizadas no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa.

2.1. Caracterização da amostra

Durante os meses de estudo, as amostras colhidas pertenciam a animais internados no centro, sendo um grupo de amostragem bastante heterogéneo, pois pretendeu-se fazer um rastreamento parasitário de aves selvagens que ingressavam no RIAS, abrangendo vários grupos e espécies. Ao todo foram realizadas colheitas de 148 amostras, pertencentes a 132 animais diferentes. Aquando da colheita, foi efetuado um levantamento de dados relevantes para o estudo: espécie, idade, data de amostragem, causa de ingresso e o método de análise a que foi submetida.

Para a pesquisa de helmintes colheram-se e observaram-se fezes de 75 Aves. As amostras foram sempre colhidas frescas e processadas e analisadas no momento da colheita. Os esfregaços fecais ($n=52$) e a recolha de sangue periférico ($n=53$) foram realizados em animais que não apresentavam sinais de extrema debilidade (exceto os que iriam ser submetidos a eutanásia) e

que não fossem suscetíveis a um grande aumento de *stress*, tentando manter o bem-estar animal dentro das melhores condições. Estas amostras normalmente eram colhidas quando a ave fosse libertada (colheita de sangue), sofresse eutanásia (colheita de sangue) ou em alturas menos stressantes de exame clínico e tratamento (esfregaços fecais retirados diretamente da cloaca). Todas as amostras foram registadas em tabelas com os dados relevantes e respetivos resultados (Anexo I).

2.2. Colheita e processamento das amostras

2.2.1 Colheita de fezes para exame coprológico

A colheita realizou-se, sempre que possível, quando se observava a existência de fezes frescas na zona de internamento. Foram colhidas a partir das boxes onde se encontravam as aves em recuperação, com o máximo de cuidado, para um copo de colheita asséptica de forma a não haver contaminação. Após cada colheita o copo era identificado (número de historial, espécie e data da colheita) e retirou-se uma pequena porção de fezes para ser imediatamente analisada, enquanto o restante era conservado em refrigeração a 4°-5°C por um período máximo de 72 horas.

2.2.1.1. Processamento da amostra pelo método de flutuação - técnica de Willis

Realizou-se a técnica de flutuação para cada amostra de fezes por forma a pesquisar ovos de helmintes e oocistos de protozoários.

Esta técnica baseia-se no princípio de que o material parasitário presente nas fezes será menos denso que a solução saturada na qual vai ser homogeneizado e, portanto, irá flutuar e então ser obtido para análise microscópica (Zajac *et al.*, 2012a). Após ter sido colhida a amostra retiraram-se dois gramas, adicionou-se solução saturada de açúcar e realizou-se a homogeneização. Seguidamente filtrou-se o preparado homogeneizado para um tubo de ensaio com uma gaze até se formar um menisco convexo sobre o qual foi colocada uma lamela; repousou de 10 a 15 minutos e a lamela foi retirada e colocada sobre uma lâmina para observação imediata ao microscópio (Greiner & Ritchie, 1994).

2.2.2 Realização de esfregaços fecais

Os esfregaços fecais foram obtidos da mucosa cloacal, na sua maioria, quando era possível e em ambiente clínico estável, que não fosse causar *stress* ao animal, na sequência de tratamento ou exame clínico. As amostras foram retiradas com um cotonete e realizado o esfregaço fecal direto; após secagem, foi imediatamente acondicionada em refrigeração a 4°-5°C para posterior

coloração e pesquisa ao microscópio no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.

2.2.2.1. Coloração pelo método de Ziehl-Neelsen

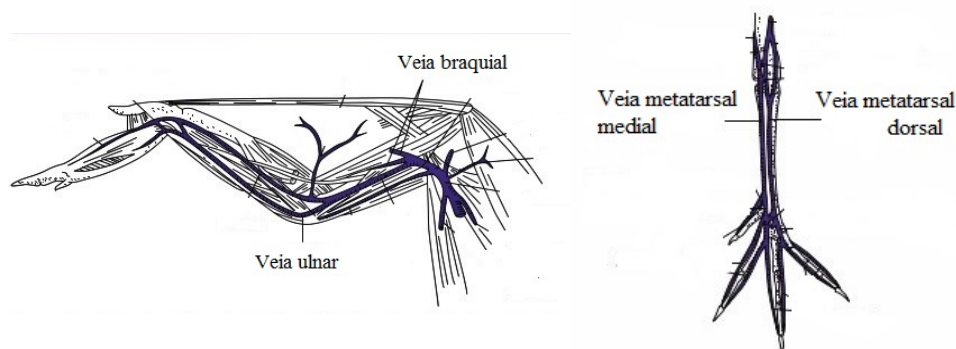
A coloração pelo método de Ziehl-Neelsen foi utilizada para a pesquisa de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. nos esfregaços fecais.

As lâminas foram fixadas com solução de metanol, durante 1 minuto, e coradas primeiramente com Fucsina (por um período de 10 minutos); seguidamente lavadas com água corrente e mergulhadas em ácido clorídrico (HCL a 1%) para eliminar o excesso de Fucsina. Após nova lavagem com água, foi colocado o segundo corante, Verde de Malaquite a 0,4% (que atua apenas 1 minuto), procedendo-se, novamente, a uma última lavagem. As lâminas são deixadas a secar num suporte e prontas a ser observadas na objetiva de imersão (1000x) (Modrý *et al.*, n.d.).

2.2.3 Colheita de sangue periférico

A colheita de sangue foi realizada de modo a atender ao bem-estar animal e usando técnicas descritas por Howlett (2000), Cooper (2002) e Chitty (2008). As aves foram retiradas da sua respetiva *box* na zona de internamento ou de câmaras de recuperação, pela técnica de preensão do corpo, sendo que a parte anterior foi sempre coberta por uma toalha a fim de diminuir o estímulo visual e, conseqüentemente, o *stress* inerente ao estímulo; sempre que necessário recorreu-se ao uso de rede e de luvas de proteção. A colheita foi executada na clínica, em decúbito dorsal sobre a mesa de tratamento e de forma a permanecer devidamente contida, com o mínimo de manipulação possível e sem afetar a atividade respiratória. Em diferentes aves (com particularidades anatómicas de espécie, tamanho e condição física) foram colhidas amostras de veias diferentes, nomeadamente da veia braquial, veia ulnar e veia metatarsal (Figura 2.). Para cada ave foi colhida uma pequena quantidade de sangue (~1 mL), o mínimo necessário a fim de minimizar quaisquer consequências fisiológicas (Clark *et al.*, 2009), utilizando seringas de 1 ou 2,5 mL e agulhas hipodérmicas de 25 gauge (0.5x16 mm) ou 23 gauge (0.6x25mm) (Krautwald-Junghanns, 2007). Imediatamente após a colheita, foram realizados 2 esfregaços sanguíneos por esgotamento e a restante amostra transferida diretamente para um tubo de colheita de 1 mL contendo anticoagulante EDTA, previamente identificado com o número de historial, a espécie e a data. Foi mantido em refrigeração a 4-5°C por um período de 48 horas.

Figura 2. Representação das veias dos membros anterior e pélvico das aves, das quais se realizou a recolha de sangue para a execução dos esfregaços.

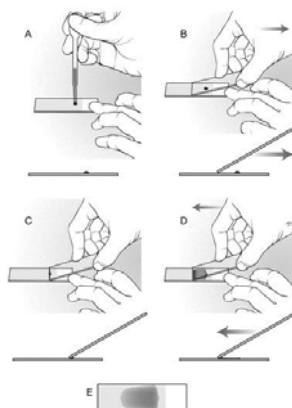


Legenda: Lado esquerdo - veias do membro anterior, numa vista ventrolateral; lado direito – veias do membro pélvico. Adaptado de Clark *et al.* (2009).

2.2.3.1 Preparação, fixação e coloração do esfregaço sanguíneo

Os esfregaços sanguíneos foram realizados imediatamente após a colheita, a partir de sangue total, sem adição de anticoagulante. Na sua execução foi utilizada a técnica por esgotamento (ou escorregamento), também denominada por técnica do esfregaço em cunha, descrita por vários autores (Modrý *et al.*, n.d., Greiner & Ritchie., 1994; Clark, 2009; Zajac *et al.*, 2012b). Foi colocada uma pequena gota de sangue numa das extremidades de cada lâmina (Figura 3.A) e, com uma lamela, efectuou-se a extensão do esfregaço; foi colocada num ângulo aproximadamente de 45° (Figura 3.B) e movida ligeiramente para trás a fim de tocar na gota de sangue para que esta se pudesse distribuir pelo bordo da lamela (Figura 3.C) e, em seguida, estendida ao longo da lâmina num movimento lento, firme e contínuo, para que se pudesse criar um esfregaço homogêneo (Figura 3.D). Após a secagem das lâminas, realizou-se a coloração Wright Giemsa, sendo a coloração mais eficaz na pesquisa de hemoparasitas (Zajac *et al.*, 2012b), seguindo o protocolo modificado por Samour (2006a) (Anexo II).

Figura 3. Representação esquemática da técnica do esfregaço por escorregamento (descrito acima).



Seguidamente foi efetuada a pesquisa de hemoparasitas com recurso a um microscópio binocular, com ampliações de 400x e 1000x (com óleo de imersão) e, sempre que necessário, procedeu-se ao registo fotográfico com câmara fotográfica digital.

2.3. Análise estatística

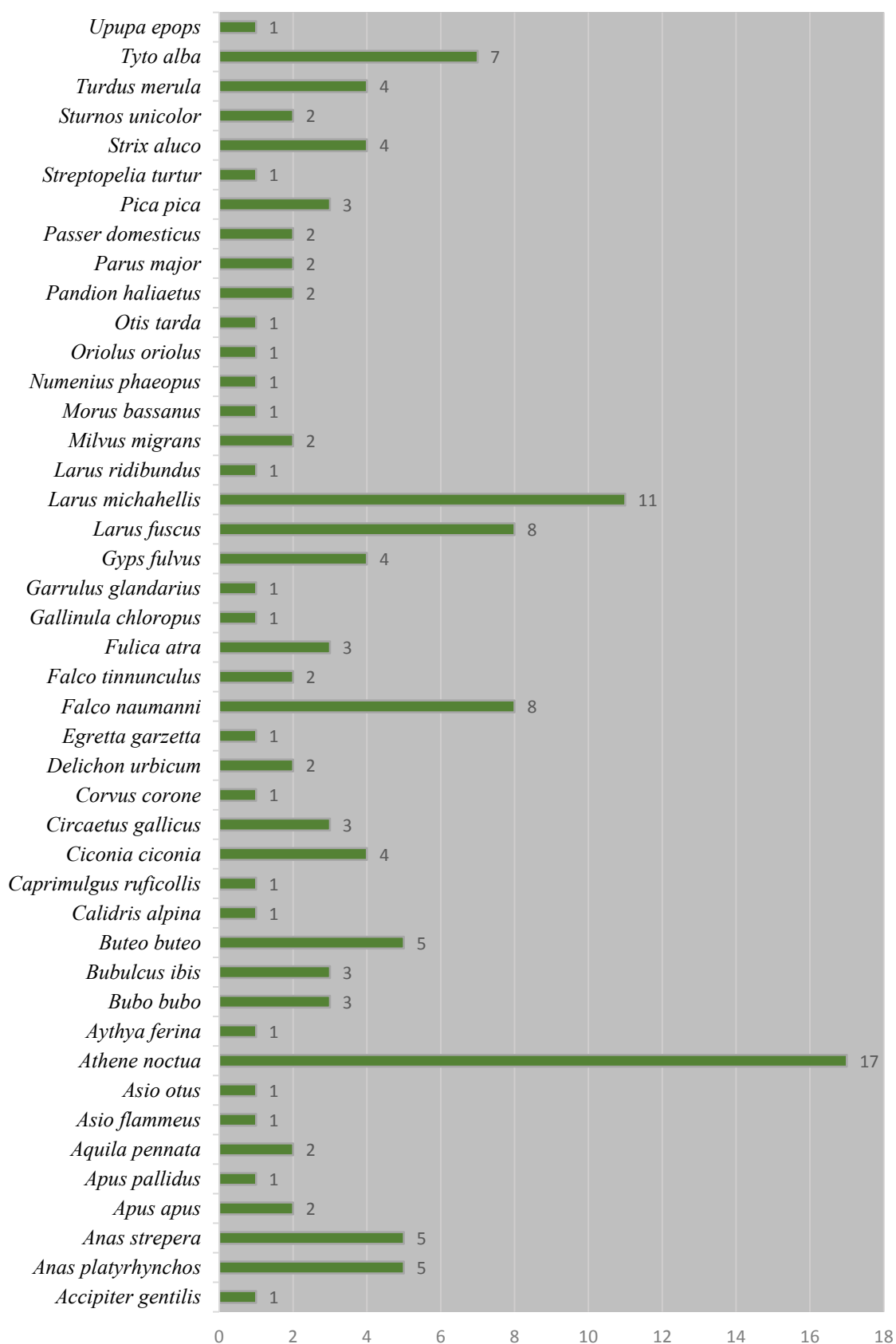
Foi criada uma base de dados a partir das observações e informações recolhidas no decorrer do estudo e armazenada no programa Microsoft Office Excel ® 2013 onde foi realizada uma parte da análise estatística descritiva. Para o cálculo das prevalências e intervalos de confiança determinados para os grupos e espécies de aves e respectivos parasitas observados, foi utilizado o comando “Estimated true prevalence with an imperfect test” na plataforma *EpiTools epidemiological calculators* (Sergeant, ESG, 2017); foram utilizadas as referências dos intervalos de Sterne, tendo-se assumido uma sensibilidade e especificidade de 1 e intervalo de confiança de 95%. As associações estatísticas foram analisadas no programa SPSS® Statistics Version 23.0, através do Teste de Qui-Quadrado (χ^2) (comando *Analyze - descriptive_statistics - crosstabs - chi-square*) e utilizado o Teste de Fisher quando não se cumpriram os pressupostos para utilização do Teste χ^2 , nomeadamente: a amostra ser superior a 20 ($n \geq 20$); todas as frequências esperadas serem superiores a 1 (i.e., 100% $E_{ij} > 1$); não mais de 20% das frequências esperadas serem inferiores a 5 (i.e., 80% $E_{ij} \geq 5$). Estes testes foram aplicados às seguintes variáveis, para cada método de pesquisa (Flutuação de Willis, Esfregaço fecal, Esfregaço Sanguíneo): grupo (aves aquáticas, estepárias, marinhas, Passeriformes, rapinas, “Outras”), idade (cria, juvenil, adulto, “Indeterminado”), habitat (aquático, terrestre), fenologia (residente, migrador), causa de ingresso (queda do ninho, captura acidental, cativo ilegal, debilidade/desnutrição, doença, trauma, desconhecida), clima (primavera, verão, outono). As aves com estatuto fenológico R/M foram excluídas desta análise estatística.

3. Resultados

3.1. Visão global - caracterização da amostra e do estudo

No total foram colhidas 148 amostras de 132 aves diferentes que pertencem a 44 espécies distintas. As espécies mais analisadas foram *Athene noctua* ($n=17$) e *Larus michahellis* ($n=11$), pertencentes aos grupos das aves de rapina e marinhas, respetivamente. Por sua vez, o grupo das rapinas foi o que conteve um maior número de indivíduos sujeitos a pesquisa ($n=53$), seguindo-se as marinhas com 28 aves analisadas (Gráfico 1.).

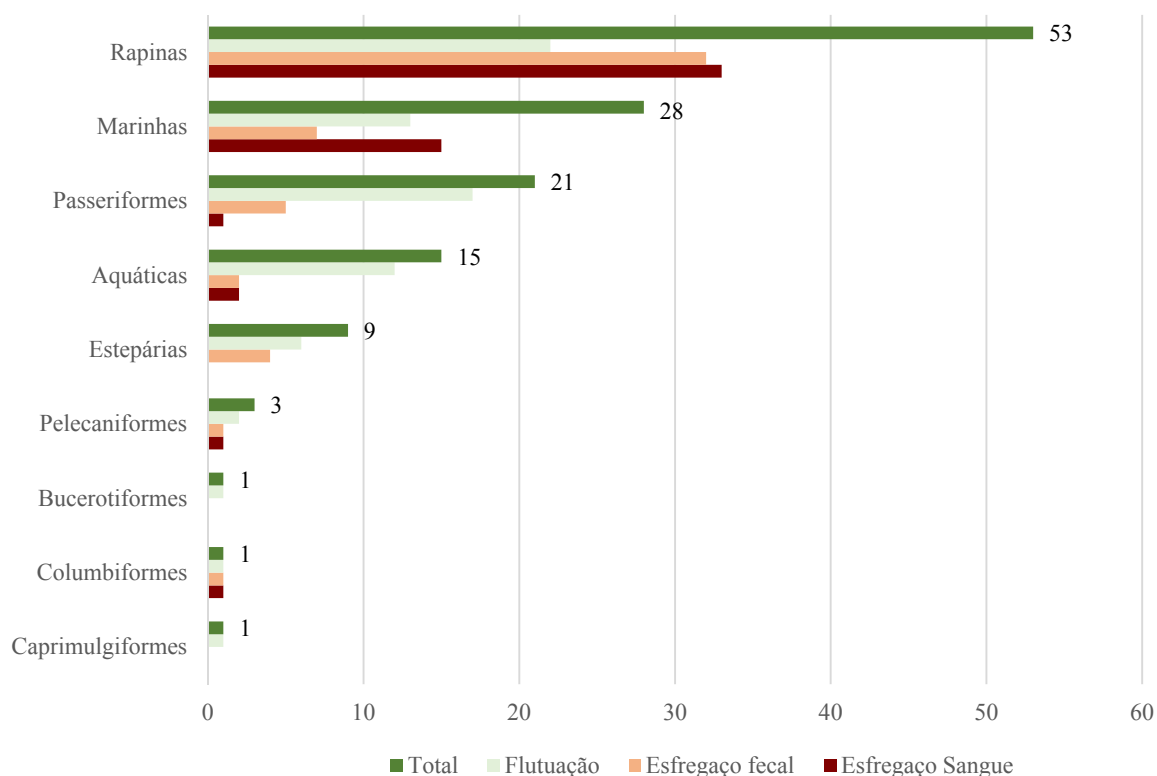
Gráfico 1. Número de indivíduos analisados na globalidade do estudo, para cada espécie de aves, por ordem alfabética decrescente.



3.1.1. Grupos de aves e técnicas utilizadas

O método de flutuação de Willis foi, no geral, a técnica mais utilizada para pesquisa de parasitas, contendo o maior número de aves pesquisadas ($n=75$); no grupo das rapinas, no entanto, realizou-se um maior número de esfregaços sanguíneos ($n=33$) para pesquisa de hemoparasitas e de esfregaços fecais ($n=32$) para *Cryptosporidium* e *Giardia* do que amostras para pesquisa de ovos/oocistos pelo método de flutuação ($n=22$). As rapinas constituíram o grupo com o maior número de amostras ($n=53$), seguindo-se as marinhas ($n=28$) e os Passeriformes ($n=21$). Os grupos menos analisados foram o dos Bucerotiformes, Columbiformes e Caprimulgiformes, contendo um só indivíduo em cada grupo (das espécies *Upupa epops*, *Streptopelia turtur* e *Caprimulgus ruficollis*, respectivamente) e o dos Pelecaniformes (representado pela espécie *Bubulcus ibis*). Nos Columbiformes foram realizadas as três técnicas em amostras do mesmo indivíduo, enquanto que as espécies pertencentes aos Bucerotiformes e Caprimulgiformes foram somente analisadas pelo método de flutuação; a ordem dos Pelecaniformes, contendo três indivíduos, foi analisada pelos três métodos. (Gráfico 2.). Nas análises estatísticas seguintes, estas quatro ordens estarão agrupadas num grupo denominado “Outras” por constituírem uma amostra demasiado pequena para representar um grupo só por si e por não se poderem agregar aos restantes grupos.

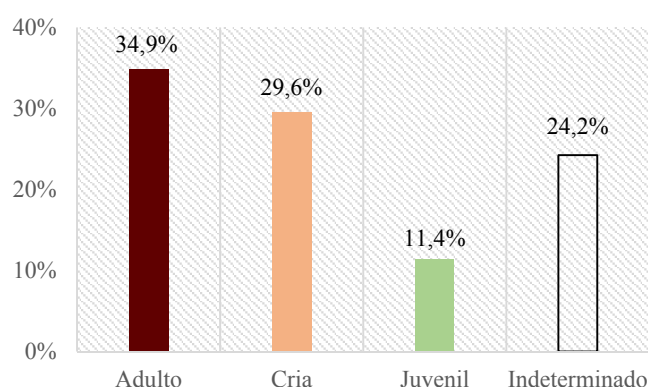
Gráfico 2. Número de indivíduos analisados para cada método e dentro de cada grupo de aves.



3.1.2. Grupo etário

Relativamente ao grupo etário, no total de aves analisadas, os indivíduos adultos foram os mais representados, correspondendo a 34,9% ($n=46$) da população em análise. Com menor representatividade, mas com valores não muito díspares, encontram-se as crias que fazem parte de 29,6% ($n=39$) dos indivíduos em estudo e as aves em que não foi possível determinar a idade (designado como grupo etário indeterminado) com uma prevalência de 24,2% ($n=32$). Os juvenis foram, por sua vez, os menos representados fazendo parte de 11,4% ($n=15$) das amostras.

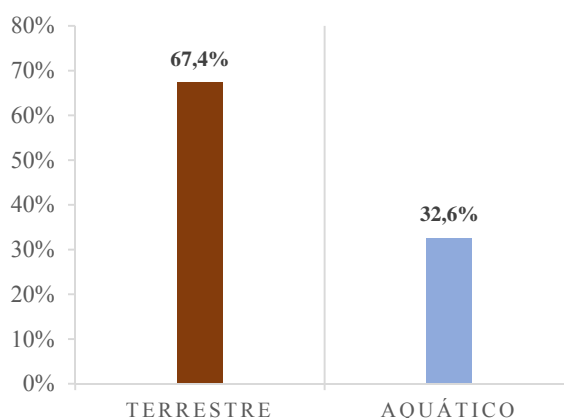
Gráfico 3. Percentagens de indivíduos analisados segundo o seu grupo etário. Do grupo “indeterminado” constam aves em que não foi possível determinar a sua idade. Crias: $n=39$; Juvenis: $n=15$; Adultos: $n=46$; “Indeterminado”: $n=32$.



3.1.3. Habitat

Das espécies analisadas 67,42% ($n=89$) pertencem a ambiente terrestre enquanto 32,68% ($n=43$) têm um habitat maioritariamente aquático ou alimentam-se em zonas aquáticas/marinhas.

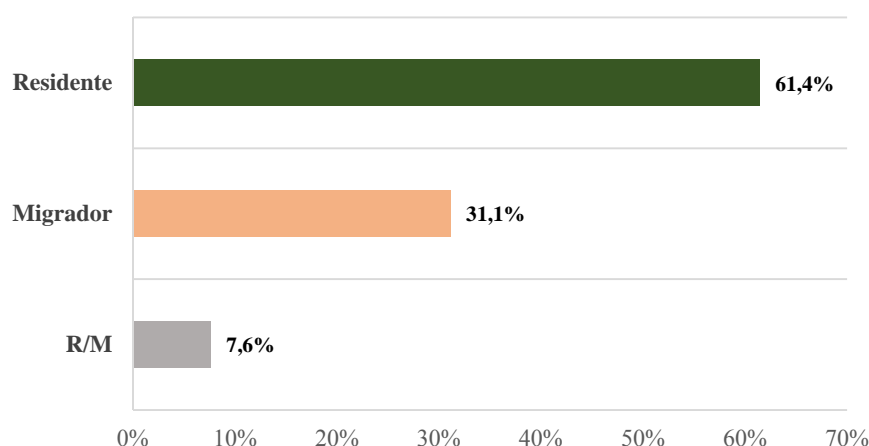
Gráfico 4. Percentagens de aves analisadas segundo o seu habitat.



3.1.4. Estatuto fenológico

Quanto à fenologia das aves sujeitas a pesquisa, em Portugal continental, pode inferir-se que 61,40% ($n=81$) são aves residentes, 31,10% ($n=41$) são aves migradoras e 7,60% ($n=10$) possuem o estatuto de residente e migradora. No Anexo III estão discriminadas as fenologias das aves em estudo.

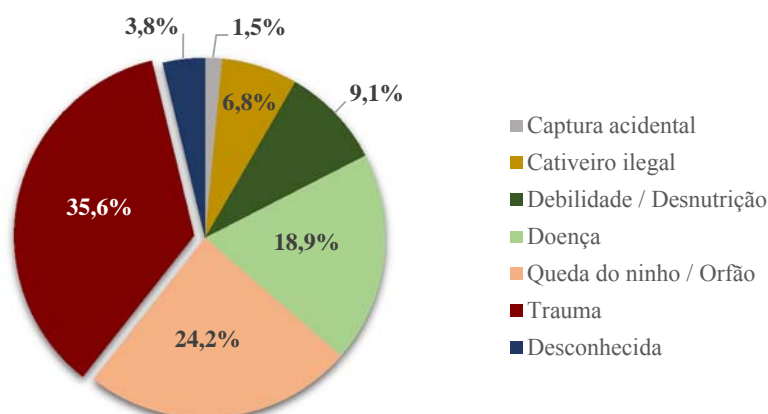
Gráfico 5. Percentagens de aves analisadas consoante o seu estatuto fenológico em Portugal continental.



3.1.5. Causa de ingresso

Do total das espécies estudadas, a principal causa de ingresso no RIAS foi por trauma (quer atropelamento, colisão, predação ou outro) com uma prevalência de 35,60% ($n=47$) das aves, sendo que a segunda causa mais comum foi por queda do ninho (24,24%; $n=32$). As aves ingressadas por motivos de doença (de etiologia variada e não discriminada) representaram 18,94% ($n=25$) dos indivíduos.

Gráfico 6. Prevalências das causas de ingresso das aves em estudo no RIAS.



3.2 Parasitismo geral

3.2.1 Grupos de Aves

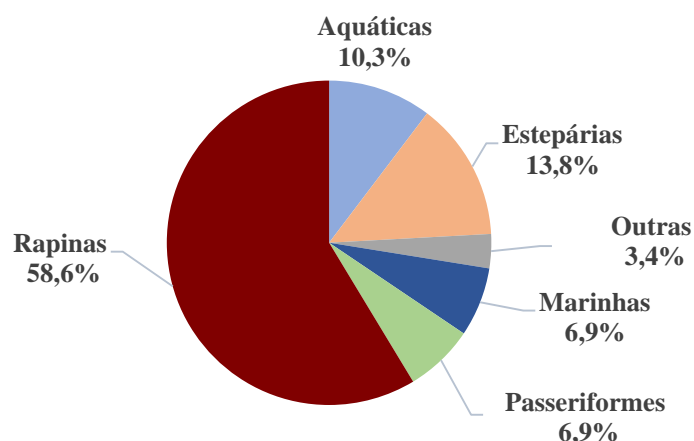
Na globalidade do estudo houve uma prevalência de parasitismo de 22% (29/132). De um modo geral, o grupo das aves estepárias, apesar de conter apenas nove indivíduos sujeitos a pesquisa e oito deles serem pertencentes a uma única espécie (*Falco naumanni*), foi o que apresentou uma maior prevalência de parasitismo (44,4%; $n=4$). O grupo das rapinas, para além de representar a maior população amostrada, foi o segundo grupo mais parasitado com 32,1% (17/53) de indivíduos positivos para parasitas; seguindo-se o grupo das aves aquáticas em que 20% (3/15) dos indivíduos se mostraram positivos para infecção parasitária. Os grupos menos parasitados foram o dos Passeriformes e aves marinhas com 9,5% (2/21) e 7,1% (2/28), respetivamente (Tabela 1.). De entre todos os indivíduos com amostras positivas, as aves de rapina foram as que mais se destacaram correspondendo a 58,6% (17/29) dos resultados; com prevalências de parasitismo relativamente próximas, seguiram-se as estepárias e as aquáticas com 13,8% (4/9) e 10,3% (3/15), de indivíduos positivos, respetivamente (Gráfico 7.).

Tabela 1. Prevalência de parasitismo global nos diferentes grupos de aves.

	N	Nº POSITIVOS	P
MARINHAS	28	2	7.1 [0.9 – 23.5]
AQUÁTICAS	15	3	20 [5.7 – 46.6]
PASSERIFORMES	21	2	9.5 [1.2– 30.4]
RAPINAS	53	17	32.1 [20.5 – 46.2]
ESTEPÁRIAS	9	4	44.4 [16.9 – 74.9]
OUTRAS	6	1	16.7 [0.42 – 64.12]
TOTAL	132	29	22 [15.4 – 29.9]

Legenda: P: prevalência (% de aves parasitadas); n : número de indivíduos; []: intervalo de confiança de 95%. **Nota:** Não foram contabilizadas amostras de ovos de pseudoparasitas ou ácaros.

Gráfico 7. Prevalências de indivíduos parasitados em cada grupo de aves relativamente ao total de resultados positivos ($n=29$).



3.2.2. Grupo etário

Quanto ao grupo etário, apesar de se ter pesquisado um maior número de aves em idade adulta ($n=39$), o que apresentou um maior número de indivíduos parasitados foi o das crias com 11 aves parasitadas (Gráfico 8.), correspondendo a 37,93% das aves positivas para parasitas (Gráfico 9.). De entre os restantes animais em que foi possível determinar a idade, os adultos foram os que, seguidamente às crias, mostraram uma maior prevalência de parasitismo fazendo parte de 24,14% ($n=7$) dos que se apresentaram parasitados. Por último ficaram os juvenis com um menor número de resultados positivos para parasitas, contendo apenas dois indivíduos. Quanto ao grupo etário indeterminado, e em relação aos outros, foi o segundo com maior prevalência de parasitismo, contendo 31% das aves positivas ($n=9$) (Gráficos 8. e 9.).

Gráfico 8. Número de indivíduos negativos e positivos para cada grupo etário observado. Crias: $n=39$; Juvenis: $n=15$; Adultos: $n=46$; “Indeterminado”: $n=32$.

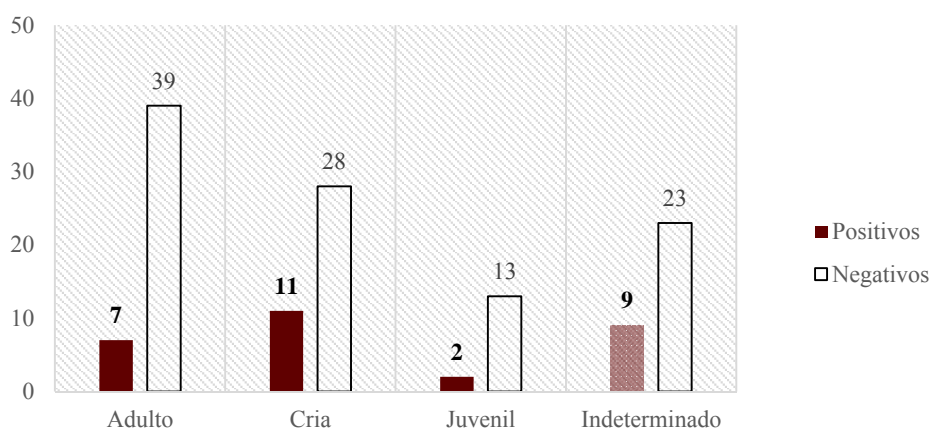
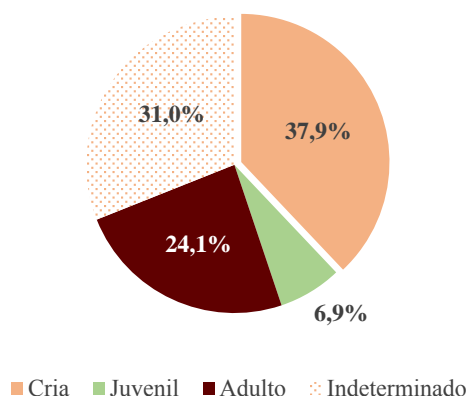


Gráfico 9. Percentagens de indivíduos positivos para parasitas segundo o grupo etário ($n=29$).



3.2.3. Habitat

As aves terrestres foram as que apresentaram um maior nível de parasitismo comparativamente às aquáticas. Sendo que foram analisadas 89 aves terrestres, 24 encontravam-se parasitadas, o que corresponde a 27% da amostra. Já as aves que se encontram maioritariamente em meio aquático apresentaram 11,63% (5/43) de parasitismo (Gráfico 10.). Relativamente ao total dos resultados positivos, as terrestres representaram 82,8% (24/29), enquanto que as aquáticas reproduziram os restantes 17,2% (5/29) (Gráfico 11.).

Gráfico 10. Número de indivíduos negativos e positivos para parasitas nos diferentes habitats. Terrestre: $n=89$; Aquático: $n=43$.

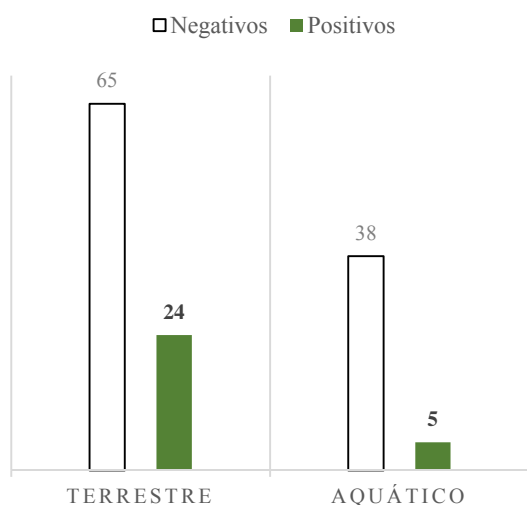
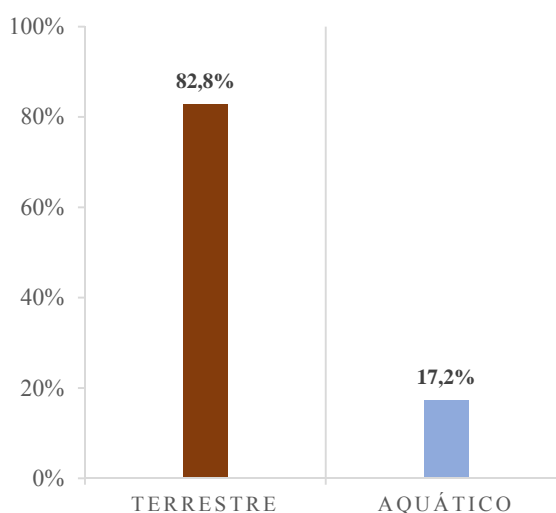


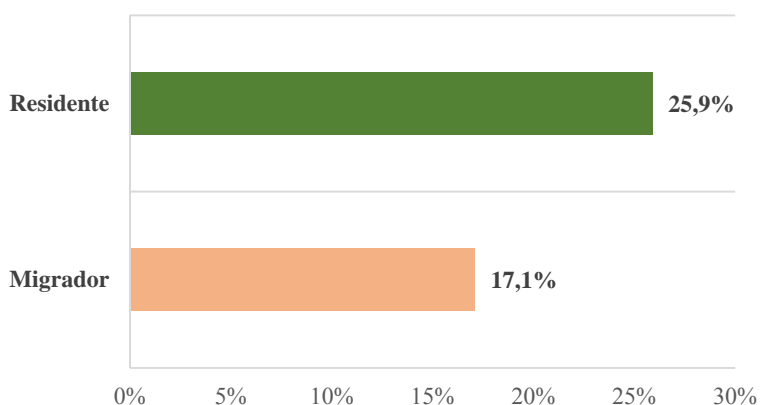
Gráfico 11. Percentagens de aves positivas para parasitas no total do estudo, segundo o seu habitat ($n=29$).



3.2.4. Estatuto fenológico

Relativamente à fenologia das aves analisadas, podemos concluir que as aves com estatuto de residente foram as mais parasitadas, sendo que foram observados parasitas em 25,90% (21/81) dos indivíduos e as aves migradoras apresentaram 17,10% (7/41) de parasitismo. No total de aves parasitadas as residentes correspondem a 75% (21/28) e as migradoras a 25% (7/28).

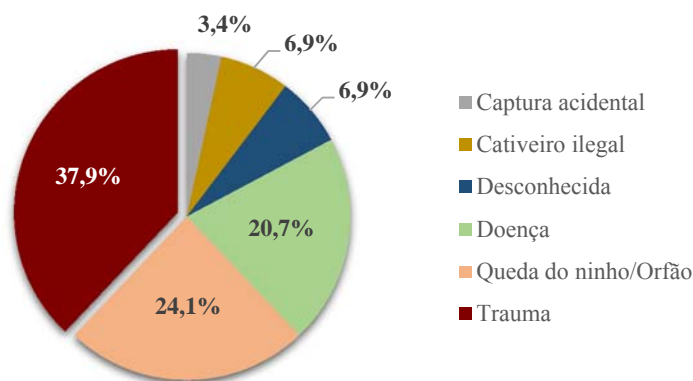
Gráfico 12. Prevalências de parasitismo de acordo com o estatuto fenológico. Residente: $n=81$; Migrador: $n=41$. Nota: não foram contabilizadas aves com estatuto R/M ($n=10$).



3.2.5. Causa de ingresso

Das amostras positivas para parasitas, a principal causa de ingresso foi por trauma correspondendo a 37,9% (11/29) dos indivíduos infectados. Aves ingressadas por queda do ninho/órfão representam 24,1% (7/29) das que se encontravam parasitadas e os que ingressaram por motivos de doença de origem indeterminada fazem parte de 20,7% (6/29) das aves infectadas. Aves débeis e desnutridas não apresentaram nenhum resultado positivo para parasitas.

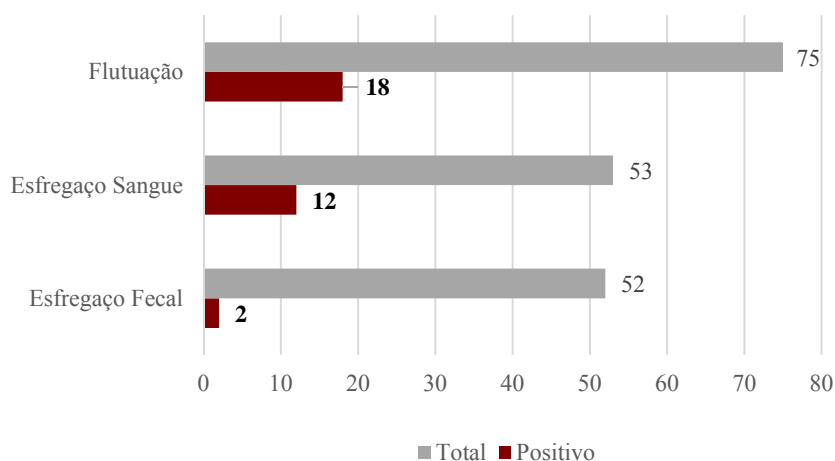
Gráfico 13. Percentagens das causas de ingresso de aves positivas para parasitas ($n=29$).



3.2.6. Técnicas

Através da técnica de flutuação de Willis foram pesquisadas 75 amostras das quais 18 (24%) foram positivas para parasitas. Em 53 esfregaços sanguíneos efectuados, foram identificados hemoparasitas em 12 indivíduos (~23%). Pela técnica do esfregaço fecal observaram-se duas amostras positivas (~4%) para protozoários intestinais entre as 52 aves utilizadas para pesquisa.

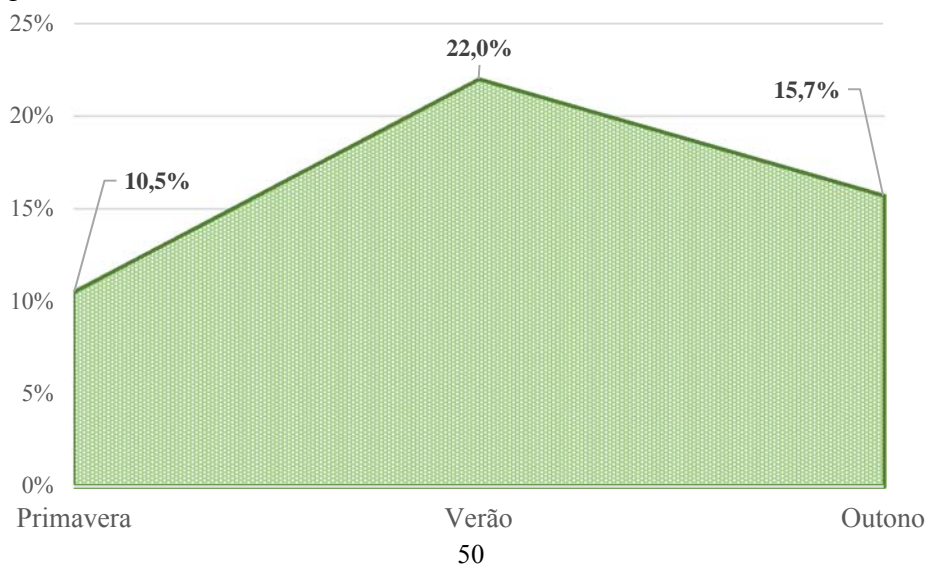
Gráfico 14. Representação do número de amostras realizadas em cada técnica e respetivo número de amostras positivas.



3.2.7. Clima

Em termos globais, ou seja, para todos os parasitas pesquisados e todas as técnicas empregues, o maior número de amostras positivas ocorreu durante o verão, correspondendo a 22% (20/91) das que se analisaram nesse período. No outono, das amostras processadas, 15,7% (8/51) encontravam-se parasitadas e na primavera surgiram 10,5% (4/38) de resultados positivos em amostras observadas durante essa estação.

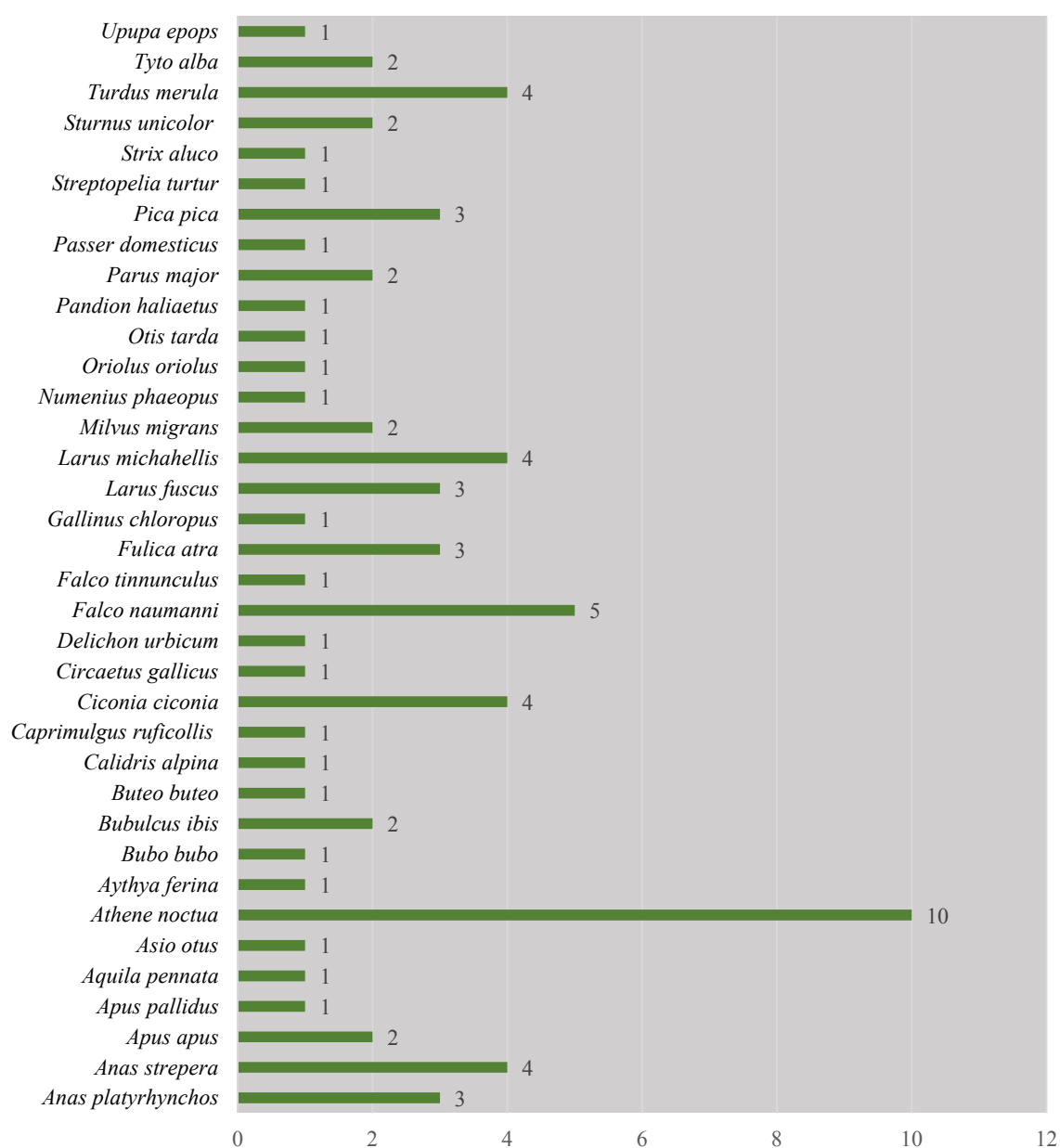
Gráfico 15. Prevalências dos resultados positivos nas diferentes estações do ano durante o tempo em que decorreu o estudo. Primavera: $n=38$; verão: $n=91$; outono: $n=51$.



3.3. Análises coprológicas – Flutuação de Willis

Através da técnica coprológica executada pelo método de flutuação de Willis foram analisadas 36 espécies de aves diferentes, sendo que a mais frequente foi a espécie *Athene noctua*, pertencente às rapinas, com 10 indivíduos sujeitos a amostra. A segunda espécie mais estudada, com cinco indivíduos analisados, foi *Falco naumanni* que, apesar de também se tratar de uma rapina, neste estudo foi incluído no grupo das aves estepárias. A maior parte das espécies ($n=20$) é representada por um só indivíduo.

Gráfico 16. Número de indivíduos analisados pelo método de flutuação de Willis, para cada espécie de aves, por ordem alfabética decendente.



3.3.1. Grupos de Aves

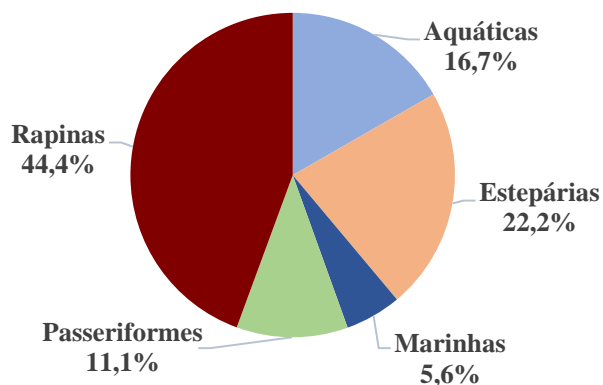
A pesquisa de ovos/oocistos de parasitas pelo método de flutuação de Willis obteve 24% (18/75) de amostras positivas no total de indivíduos analisados. Aves do grupo das rapinas foram as mais frequentes ($n=22$) e as que apresentaram a segunda maior prevalência de parasitismo (36,4% - 8/22). As estepárias, apesar de terem sido representadas por poucos indivíduos ($n=6$), a prevalência de amostras parasitadas foi a mais elevada com 66,7% (4/6) de amostras positivas (Tabela 2.). Relativamente ao total de resultados positivos, no Gráfico 17., podemos verificar que as rapinas ocupam a maior percentagem de indivíduos correspondendo a 44% (8/18) dos indivíduos parasitados, seguindo-se as estepárias com 22% (4/18). As marinhas foram as menos representadas com 6% (1/18) de resultados positivos. O grupo “Outras” não apresentou indivíduos com amostras parasitadas. Foram identificadas associações estatisticamente significativas na presença de parasitas fecais ($p= 0,034$; $p \leq 0,05$) entre os grupos de aves; as estepárias mostraram-se expressivamente mais parasitadas que os outros grupos.

Tabela 2. Prevalência de parasitismo em amostras fecais pelo método de flutuação de Willis, nos diferentes grupos de aves.

	<i>N</i>	Nº POSITIVOS	P
MARINHAS	13	1	7.7 [0.2 – 36.0]
AQUÁTICAS	12	3	25 [7.2 – 54.4]
PASSERIFORMES	17	2	11.8 [1.5 – 36.4]
RAPINAS	22	8	36.4 [18.7 – 58.2]
ESTEPÁRIAS	6	4	66.7 [27.1 – 93.7]
OUTRAS	5	0	0 [0 – 52.2]
TOTAL	75	18	24 [15.1 – 35.3]

Legenda: P: prevalência (% de aves parasitadas); *n*: número de indivíduos; []: intervalo de confiança de 95%. **Nota:** Não foram contabilizadas amostras de ovos de pseudoparasitas ou ácaros.

Gráfico 17. Prevalências de indivíduos parasitados em cada grupo de aves relativamente ao total de resultados positivos ($n=18$). Nota: foi excluído o grupo “Outras” por não ter apresentado resultados positivos.



3.3.2. Grupo etário

As crias foram o grupo etário que apresentou uma maior prevalência de resultados positivos nas análises coprológicas, representando 50% (9/18) (Gráfico 19.) das amostras onde se observaram parasitas e também o grupo com maior representatividade de indivíduos ($n=29$) (Gráfico 18.). De entre os grupos etários onde foi possível determinar a idade das aves, os adultos, seguidamente às crias, obtiveram um maior número de amostras positivas (16,7% - 3/18) e também a segunda maior população amostrada ($n=21$); no entanto, os juvenis mostraram a segunda maior prevalência parasitária (20% - 1/5), com as crias ocupando o primeiro lugar (31% - 9/29). O grupo correspondente às aves em que não se determinou a idade obteve 27,8% (5/18) de amostras positivas, sendo o segundo grupo, ainda que indeterminado, com maior prevalência. Não ocorreram associações estatisticamente significativas na prevalência de infeção consoante a idade ($p=0,600$; $p>0,05$).

Gráfico 18. Número de indivíduos negativos e positivos para cada grupo etário observado pelo método de flutuação. Crias: $n=29$; Juvenis: $n=5$; Adultos: $n=21$; “Indeterminado”: $n=20$.

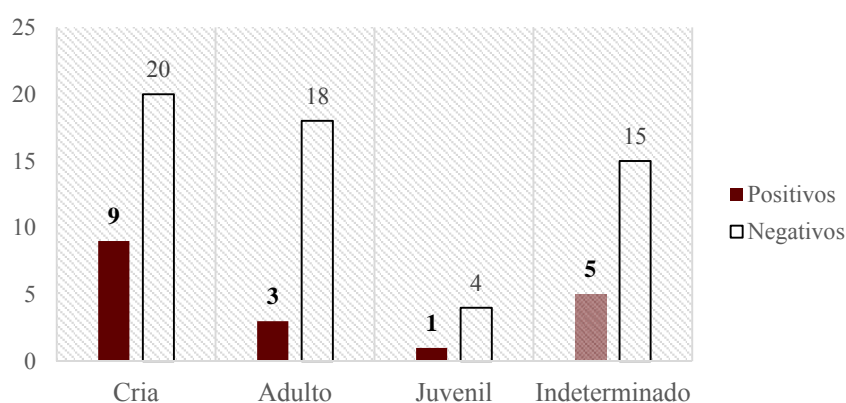
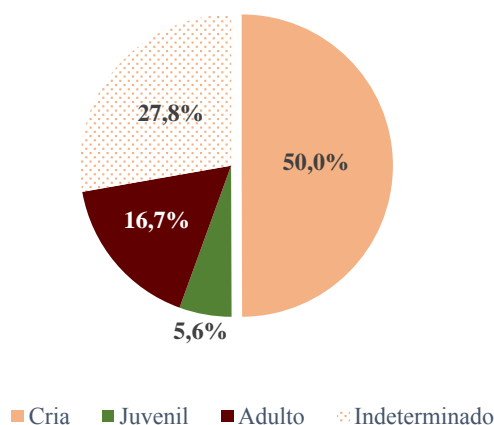


Gráfico 19. Percentagens de indivíduos positivos nas análises coprológicas, segundo o grupo etário ($n=18$).



3.3.3. Habitat

A maioria das aves analisadas pertenciam a habitat terrestre ($n=50$) e obtiveram 28% (14/50) (Gráfico 20.) de resultados positivos o que corresponde a 77,8% (14/18) das amostras globais positivas (Gráfico 21.). As aves pertencentes a ambiente aquático, por sua vez, representaram 22,2% (4/18) (Gráfico 21.) das amostras parasitadas, o correspondente a 16% (4/25) das aves analisadas neste grupo ($n=25$) (Gráfico 20). Não ocorreram associações estatisticamente significativas na prevalência de parasitária de acordo com o habitat ($\chi^2_{(1)} = 1,951$; $p = 0,260$; $p > 0,05$).

Gráfico 20. Número de indivíduos negativos e positivos observados pelo método de flutuação nos diferentes habitats. Terrestre: $n=50$; Aquático: $n=25$.

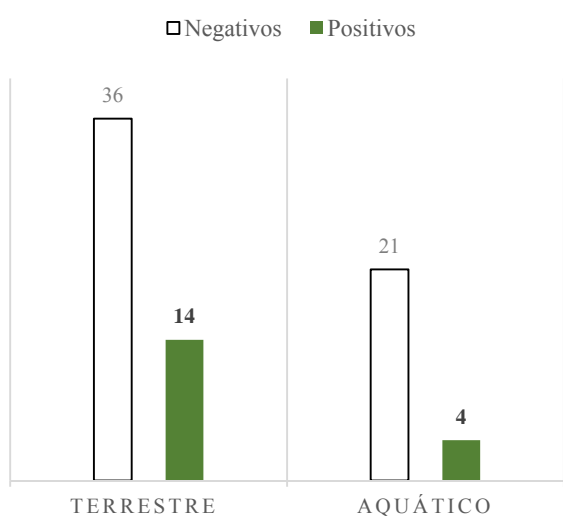
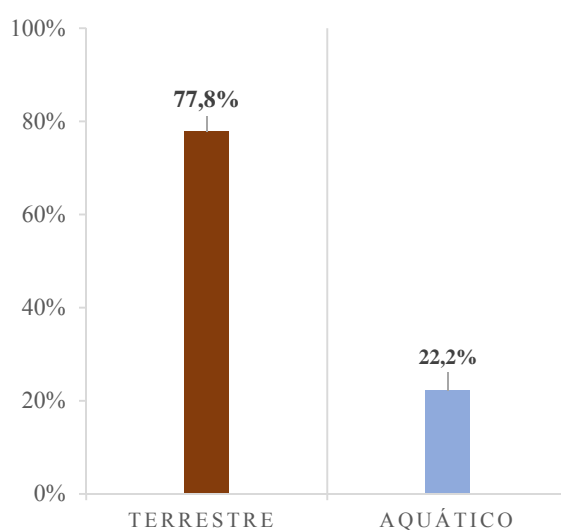


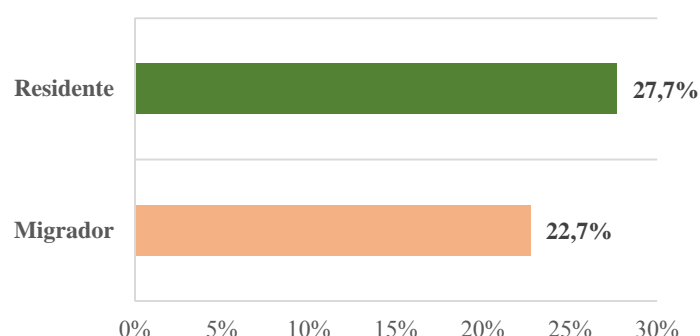
Gráfico 21. Percentagens de indivíduos positivos consoante o habitat ($n=18$).



3.3.4. Estatuto fenológico

As aves com fenologia residente foram as que exibiram maior parasitismo apresentando 27,70% (13/47) das amostras positivas. Por sua vez, as com estatuto de migradora obtiveram 22,70% (5/22) das suas amostras parasitadas. No total dos resultados positivos, as residentes contemplam 72,2% (13/18) dos indivíduos parasitados, enquanto que as migradoras abrangem 27,7% (5/18). Não ocorreram associações estatisticamente significativas na prevalência parasitária de acordo com o estatuto fenológico ($\chi^2_{(1)} = 0,968$; $p = 0,406$; $p > 0,05$).

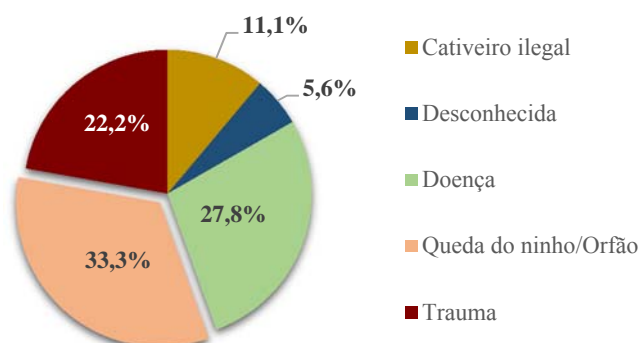
Gráfico 22. Prevalências de parasitismo de acordo com o estatuto fenológico. Residente: $n=47$; Migrador: $n=22$. Nota: não foram contabilizadas aves com estatuto R/M ($n=6$).



3.3.5 Causa de ingresso

A principal causa de ingresso, em aves parasitadas, foi por queda do ninho e/ou indivíduo órfão, correspondendo a 33,3% (6/18) das amostras positivas. Em seguida, e por ordem decrescente de prevalência, temos aves ingressadas por motivos de doença (27,8% - 5/18); as que sofreram algum tipo de trauma físico (atropelamento ou outro) (22,2% - 4/18); as que foram encontradas em cativeiro ilegal (11,1% - 2/18) e, por último, as que não foi possível identificar a causa de ingresso (5,6% - 1/18). Não foram identificadas associações estatisticamente significativas com relação à causa de ingresso ($p = 0,406$; $p > 0,05$).

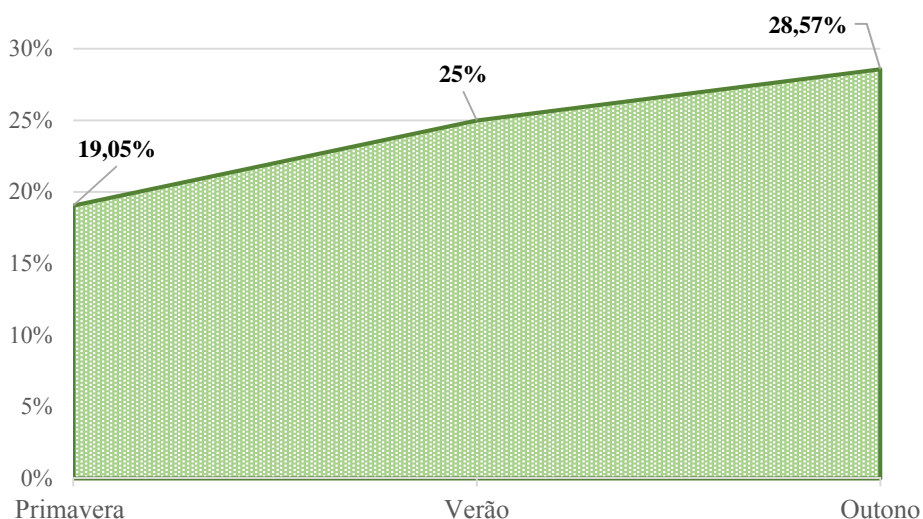
Gráfico 23. Percentagens das causas de ingresso de aves positivas para parasitas pelo método de flutuação de Willis ($n=18$).



3.3.6. Clima

O outono foi a estação onde houve uma maior prevalência parasitária relativamente às aves analisadas pelo método de flutuação de Willis em cada estação, sendo que 28,57% (4/14) das aves foram positivas. A segunda maior prevalência aconteceu no verão (25% - 10/40), seguindo-se a primavera (19,05% - 4/21). Com relação ao total de resultados positivos, no verão foi onde se verificaram o maior número de amostras parasitadas (10/18), o que corresponde a 55,5%. Não foram encontradas associações estatisticamente significativas na prevalência relativamente ao clima ($\chi^2_{(2)} = 0,465$; $p = 0,820$; $p > 0,05$).

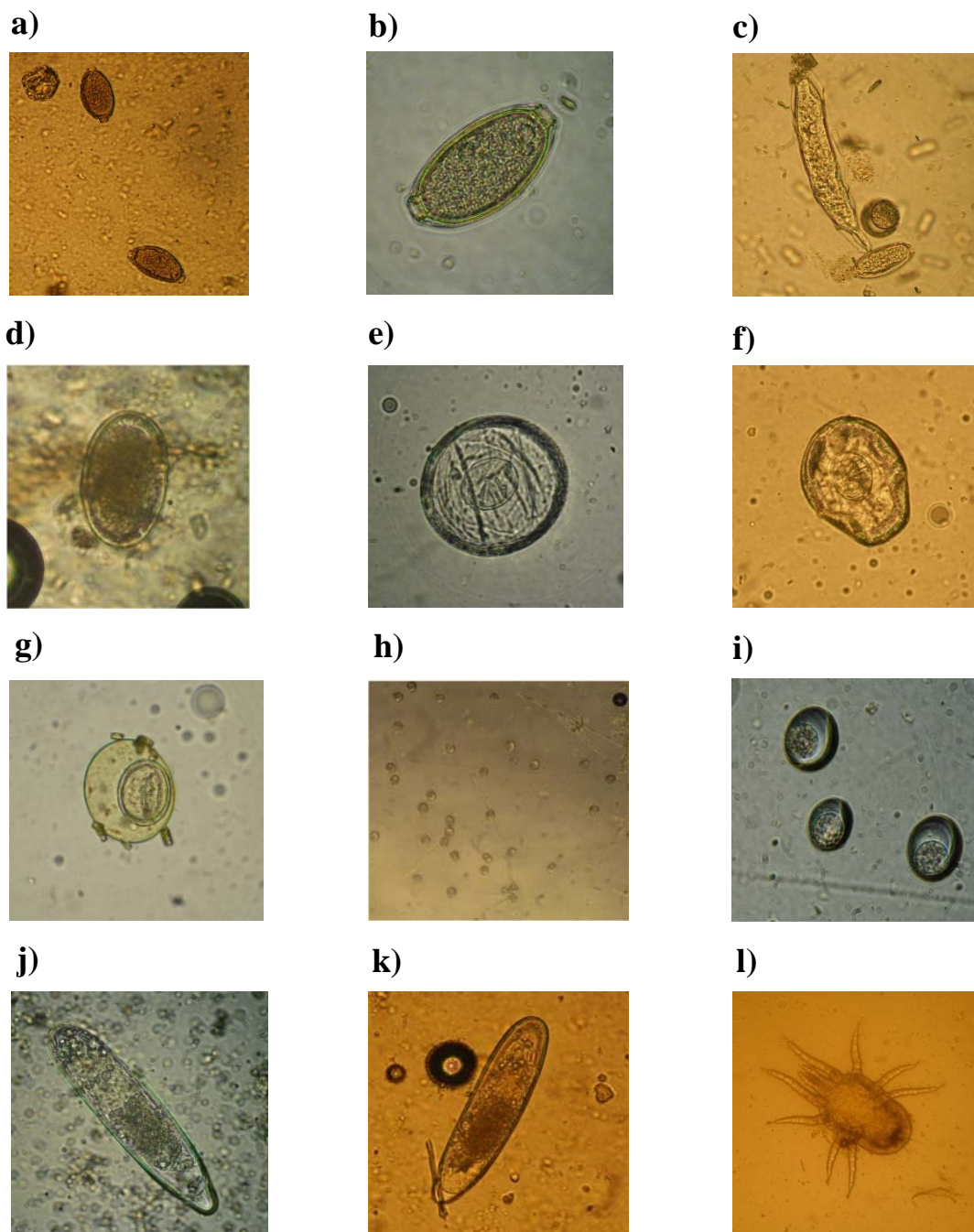
Gráfico 24. Prevalências dos resultados positivos para o método de flutuação de Willis, nas diferentes estações do ano, durante o tempo em que decorreu o estudo. Primavera: $n=21$; verão: $n=40$; outono: $n=14$.



3.3.7. Formas parasitárias observadas e prevalência

Seguidamente serão apresentadas fotografias originais das formas parasitárias isoladas através do método de Flutuação de Willis e observadas ao microscópio ótico.

Figura 4. Observações microscópicas resultantes da análise coprológica pela técnica de willis.



Legenda: a) Ovos de *Capillaria* sp. em *Athene noctua* [x200]; b) ovo de *Capillaria* sp. em *Tyto alba* [x400]; c) ovo de *Capillaria* sp., oocisto de coccidia e ovo de ácaro em *Athene noctua* [x200]; d) ovo de ascarídeo (ordem Ascaridida) em *Anas platyrhynchos* [x400]; e), f) e g) ovos de cestode em *Turdus merula* [x400]; h) oocistos de coccídias em *Falco naumanni* [x100]; i) oocistos de coccídias em *Falco naumanni* [x400]; j) ovo de ácaro em *Asio otus* [x400]; k) ovo de ácaro em *Aquila pennata* [x400]; l) ácaro em *Turdus merula* [x100].

A espécie *Falco naumanni* foi o hospedeiro que apresentou maior prevalência de amostras parasitadas (80% - 4/5), a par da espécie *Athene noctua* com 70% (7/10) dos indivíduos infetados; nesta última também se observaram pseudoparasitas (nomeadamente ovos de ácaros) em 20% (2/10) das amostras. *Larus fuscus* foi, das espécies parasitadas, a que apresentou uma menor prevalência (33% - 1/3) (Tabela 3.). Foram identificados ovos de pseudoparasitas, nomeadamente de ácaros, em quatro espécies de aves, identificadas na Tabela 3. (para além da espécie referida acima), o que corresponde, no total, a seis indivíduos (Gráfico 25.). O parasita que se apresentou com prevalência superior foi a *Capillaria* sp., abrangendo quase metade dos resultados positivos (47,60% - 10/18), sendo sucedido pelas coccídias que representaram 38,10% (8/18) das amostras parasitadas. Seguiram-se os cestodes e, por último, os ascarídeos (Gráfico 26.). Surgiram associações parasitárias em 22,2% (4/18) das amostras, sendo que em 8,3% (1/18) deram-se associações *Capillaria* sp. / Cestodes e *Capillaria* sp. / Ascarídeos e 11,1% (2/18) corresponderam a associações *Capillaria* sp. / Coccídias (Tabela 4.).

Tabela 3. Prevalências de parasitismo para cada espécie de ave positiva e respectivos parasitas observados.

			Positivos	Ascarídeos	<i>Capillaria sp.</i>	Cestodes	Coccídias	Pseudoparasitas
A	<i>Anas platyrhynchos</i> (n=3)	P	66.7 [9.4 – 99.2]	33.3 [1.7 – 86.5]	66.7 [9.4 – 99.2]	----	----	----
	<i>Gallinula chloropus</i> (n=1)	P	100 [5 – 100]	----	100 [5 – 100]	----	----	----
E	<i>Falco naumanni</i> (n=5)	P	80 [34.3 – 99]	----	----	----	80 [34.3 – 99]	----
M	<i>Larus fuscus</i> (n=3)	P	33.3 [1.7 – 86.5]	----	33.3 [1.7 – 86.5]	----	----	----
R	<i>Aquila pennata</i> (n=1)	P	----	----	----	----	----	100 [5 – 100]
	<i>Asio otus</i> (n=1)	P	----	----	----	----	----	100 [5 – 100]
	<i>Athene noctua</i> (n=10)	P	70 [38.1 – 91.3]	----	50 [22.2 – 77.8]	----	40 [15 – 70.9]	20 [3.7 – 55.4]
	<i>Buteo buteo</i> (n=1)	P	----	----	----	----	----	100 [5 – 100]
	<i>Milvus migrans</i> (n=1)	P	----	----	----	----	----	100 [5 – 100]
	<i>Tyto alba</i> (n=2)	P	50 [9.8 – 90.2]	----	50 [2.5 – 93.7]	----	----	----
P	<i>Turdus merula</i> (n=4)	P	50 [6.8 – 93.2]	----	25 [0.6 – 80.6]	50 [6.8 – 93.2]	----	----

Legenda: P: Prevalência (% de aves parasitadas); *n*: número da amostra; [] : intervalo de confiança de 95%. A: Aves aquáticas; E: Aves estepárias; M: Aves marinhas; R: rapinas; P: Passeriformes.

Tabela 4. Associações parasitárias encontradas e respectivas espécies de hospedeiros.

Parasitas	Hospedeiros
<i>Capillaria</i> sp. / Cestodes	<i>Turdus merula</i> (n=1)
<i>Capillaria</i> sp. / Ascaridida	<i>Anas platyrhynchos</i> (n=1)
<i>Capillaria</i> sp. / Coccídias	<i>Athene noctua</i> (n=2)

Gráfico 25. Representação do número de amostras parasitadas em que ocorreu co-infecção e pseudoparasitismo.

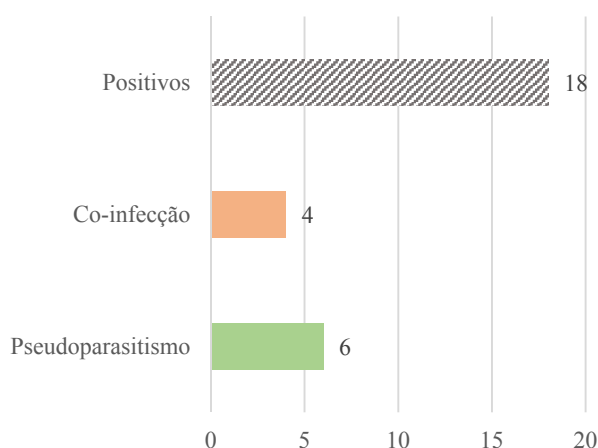
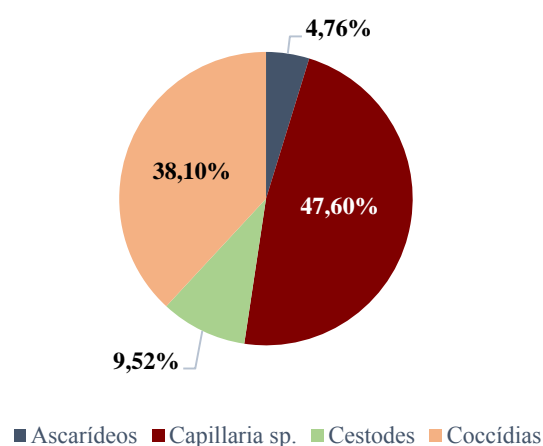


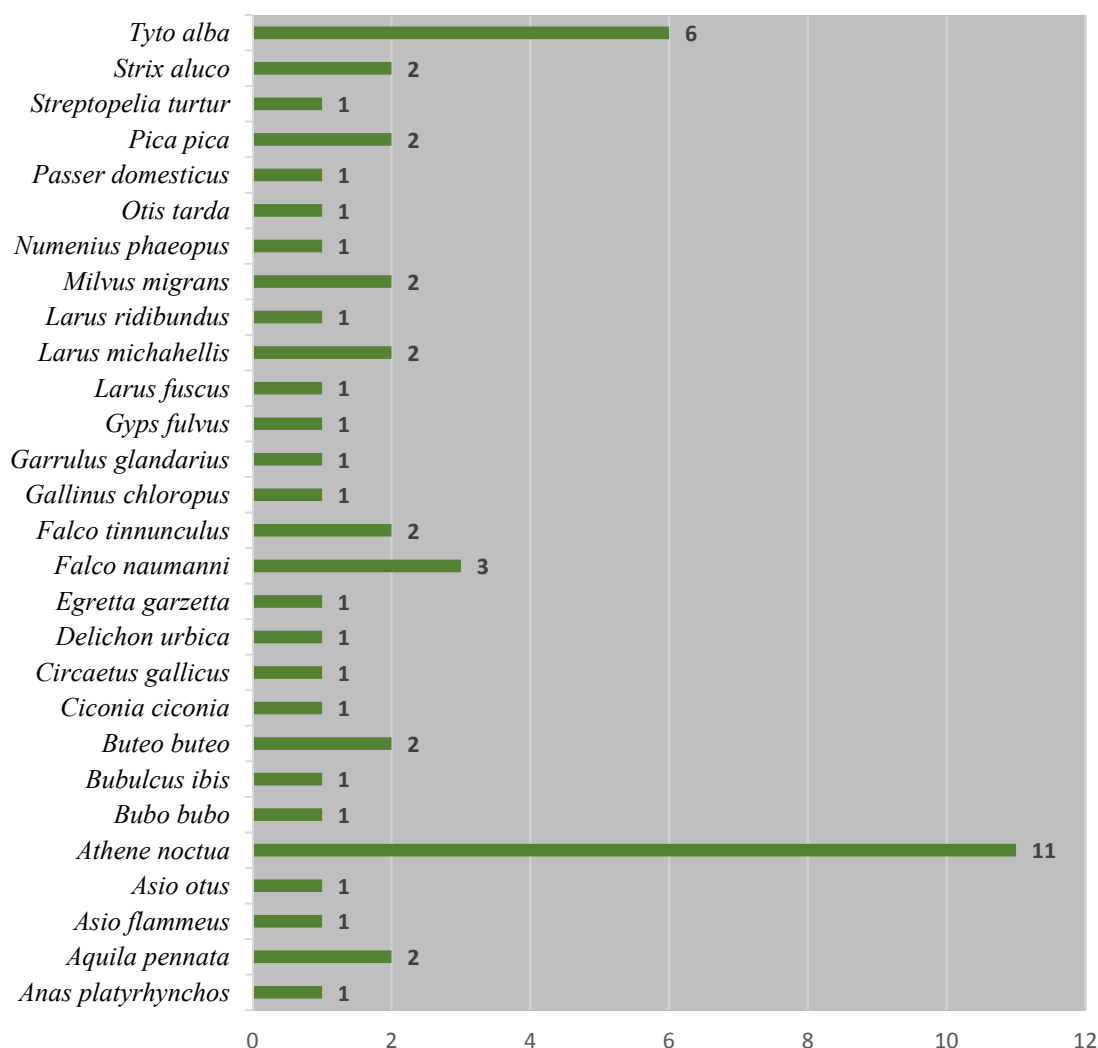
Gráfico 26. Prevalências dos diferentes ovos/oocistos de parasitas observados pelo método de flutuação de Willis no total das amostras positivas (n=18).



3.4. Pesquisa de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp. – Esfregaços fecais

A pesquisa de *Cryptosporidium* e *Giardia* através de esfregaços fecais abrangeu uma população de 52 Aves pertencentes a 28 espécies. Com maior representatividade surgiu a espécie *Athene noctua*, sendo representada por 11 indivíduos. Apesar de uma menor representatividade, também se destaca a espécie *Tyto alba* com seis indivíduos amostrados. A grande parte das espécies contém um ou dois indivíduos (n=25).

Gráfico 27. Número de indivíduos analisados, através de esfregaço fecal para pesquisa de *Cryptosporidium* e *Giardia*, para cada espécie de ave, por ordem alfabética descendente.



3.4.1. Grupos de Aves

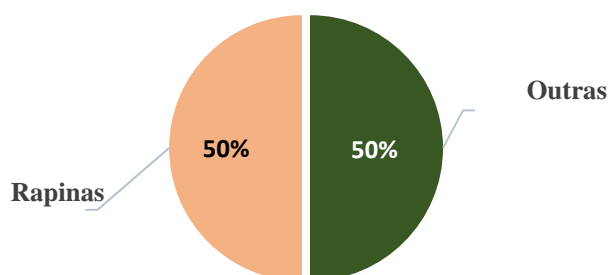
A prevalência total de parasitismo para esfregaços fecais foi de 3,8% (2/52), sendo que 50% deste valor correspondeu às rapinas e os outros 50% ao grupo “Outras” (Gráfico 28.). As aves pertencentes aos outros grupos não apresentaram parasitismo. As rapinas obtiveram 3,1% das duas amostras parasitadas (1/32); o grupo “Outras”, a ser representado por um Columbiforme e um Pelecaniforme, obteve 50% (1/2), que se traduz num valor bastante inexpressivo por se tratar de uma amostra de dois indivíduos (Tabela 5.) Não se identificaram associações estatisticamente significativas relativamente aos grupos de aves ($p = 0,240$; $p > 0,05$).

Tabela 5. Prevalência de parasitismo em amostras de esfregaços fecais, nos diferentes grupos de aves.

	<i>N</i>	Nº POSITIVOS	<i>P</i>
MARINHAS	7	0	0 [0 – 41.0]
AQUÁTICAS	2	0	0 [0 – 77.6]
PASSERIFORMES	5	0	0 [0 – 52.2]
RAPINAS	32	1	3.1 [0.2 – 16.6]
ESTEPÁRIAS	4	0	0 [0 – 52.7]
OUTRAS	2	1	50 [1.26 – 98.7]
TOTAL	52	2	3.8 [0.7 – 13.29]

Legenda: *P*: prevalência (% de aves parasitadas); *n*: número de indivíduos; []: intervalo de confiança de 95%.

Gráfico 28. Prevalências de indivíduos parasitados em cada grupo de Aves relativamente ao total de resultados positivos (*n*=2). Nota: foram excluídos os restantes grupos por não apresentarem amostras positivas.



3.4.2. Grupo Etário

Das duas amostras positivas nesta técnica, uma delas é correspondente a uma cria e outra a um juvenil. Dado que foram analisadas 12 crias, a amostra positiva corresponde a 8,3% dos indivíduos nesta faixa etária. No caso dos juvenis foram analisadas cinco aves e, portanto, a ave parasitada representa 20% das aves em idade juvenil. Não se identificaram quaisquer amostras

positivas em adultos ou em aves com idade não determinada. Não foram observadas associações estatisticamente significativas consoante a idade das aves ($p = 0,098$; $p > 0,05$).

Gráfico 29. Número de indivíduos negativos e positivos para cada grupo etário. Crias: $n=12$; Juvenis: $n=5$; Adultos: $n=23$; “Indeterminado”: $n=12$.

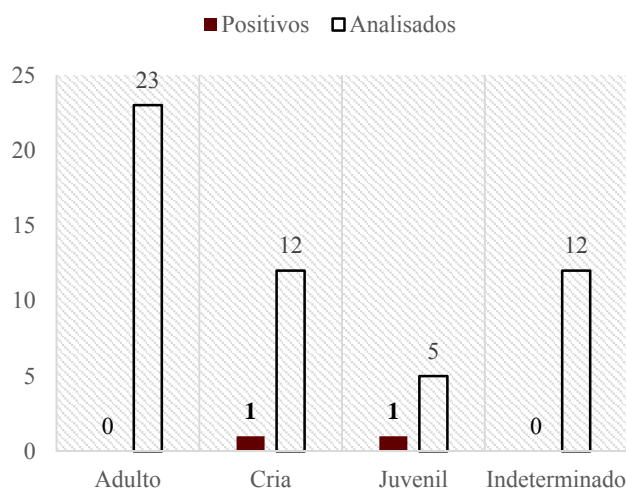
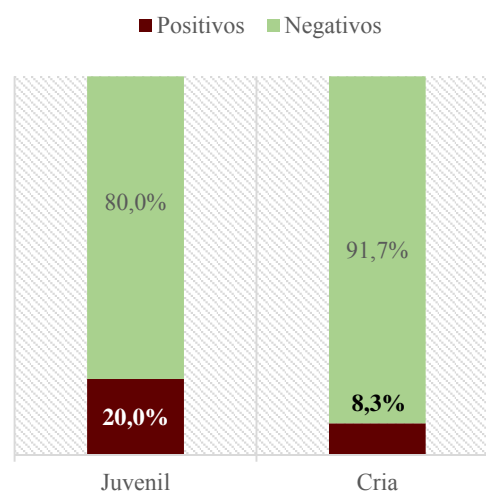


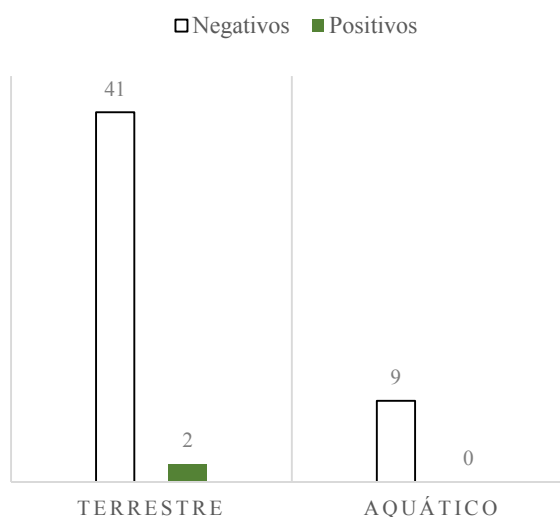
Gráfico 30. Percentagens de resultados positivos nos dois grupos etários em que foram identificados parasitas. Crias: $n=12$; Juvenis: $n=5$.



3.4.3. Habitat

Relativamente ao habitat, as duas amostras positivas pertenciam a aves de meio terrestre, nomeadamente um Strigiforme e um Columbiforme, o que corresponde a 4,65% (2/43) das aves terrestres analisadas. Não se obtiveram amostras positivas em aves de ambiente aquático. Não se assinalaram quaisquer associações estatisticamente significativas neste parâmetro em análise ($p = 1$; $p > 0,05$).

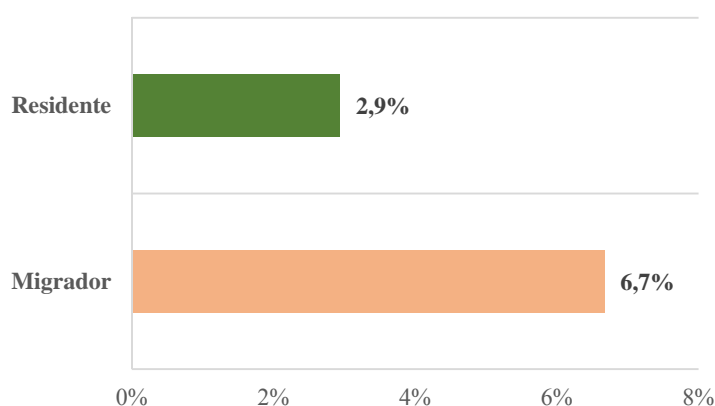
Gráfico 31. Número de indivíduos negativos e positivos com relação aos diferentes habitats. Terrestre: $n=43$; Aquático: $n=9$.



3.4.4. Estatuto fenológico

A taxa de prevalência de parasitismo em aves migradoras foi superior, o correspondente a 6,67% (1/15) comparativamente a 2,94% (1/34) em residentes. Relativamente ao total de amostras parasitadas, as residentes representam 50% e as migradoras os outros 50%, dado que houve uma amostra positiva correspondente a cada estatuto. Com relação ao estatuto fenológico, não foram observadas associações estatisticamente significativas ($p=1$; $p>0,05$).

Gráfico 32. Prevalências de parasitismo de acordo com o estatuto fenológico. Residente: $n=34$; Migrador: $n=15$. Nota: não foram contabilizadas aves com estatuto R/M ($n=3$).



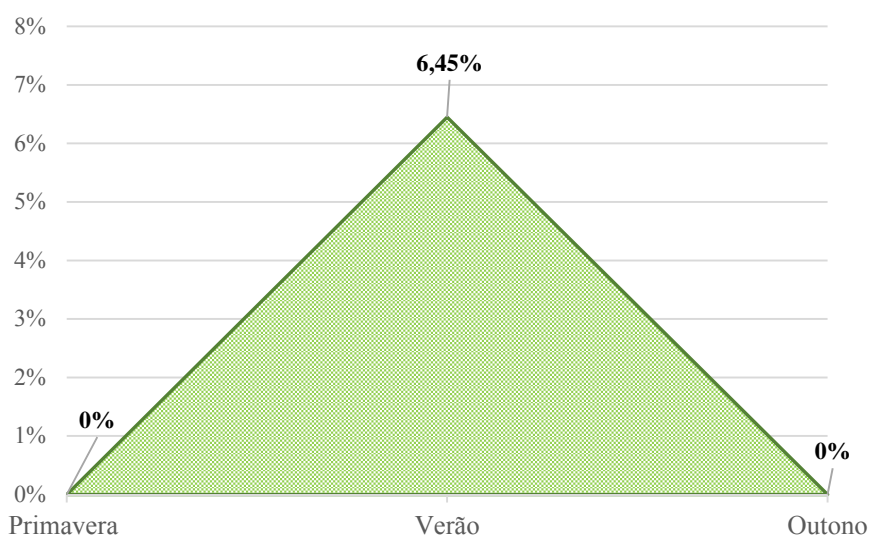
3.4.5. Causa de ingresso

As duas aves que se encontraram parasitadas pelos protozoários intestinais ingressaram no RIAS ou por causa desconhecida (espécie *Streptopelia turtur*), ou por motivos de doença (espécie *Athene noctua*), de etiologia indeterminada. Não se encontraram associações estatisticamente significativas para as diferentes causas de ingresso ($p=0,062$; $p>0,05$).

3.4.6. Clima

Os indivíduos que apresentaram amostras positivas foram analisados no verão, o que corresponde a 6,45% (2/31) das amostras realizadas nessa estação. Na primavera e no outono não se observaram quaisquer amostras positivas para protozoários intestinais, concebidas através de esfregaço fecal. Nas três estações do ano assinaladas, não se identificaram associações estatisticamente significativas ($p=1$; $p>0,05$).

Gráfico 33. Prevalências de amostras positivas nas diferentes estações do ano, durante o tempo em que decorreu o estudo. Primavera: $n=9$; verão: $n=31$; outono: $n=12$.

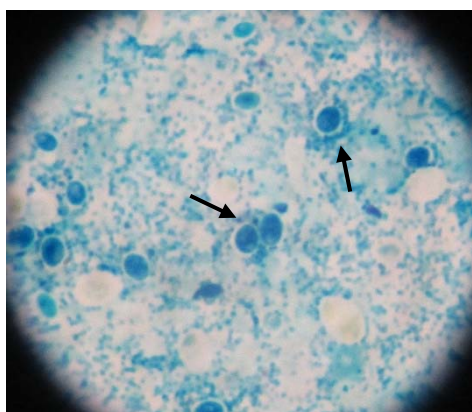


3.4.7. Protozoários observados e prevalências parasitárias

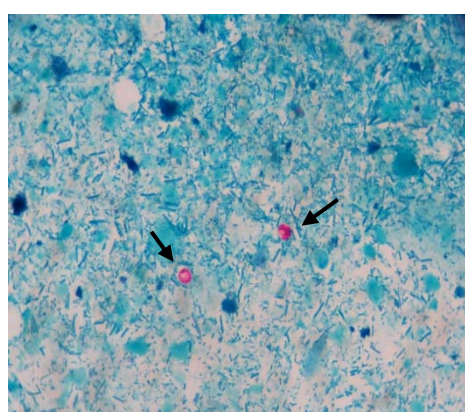
Os esfregaços fecais realizados resultaram em apenas duas amostras positivas, uma pertencente à espécie hospedeira *Streptopelia turtur* que foi o único indivíduo analisado desta espécie; a amostra encontrava-se parasitada por *Giardia* sp. A segunda amostra positiva pertence à espécie *Athene noctua*, parasitada por *Cryptosporidium* sp., e que apresentou 9.1% de parasitismo. A prevalência em *Streptopelia turtur* tem muito pouca expressividade (Tabela 6.).

Figura 5. Observações microscópicas resultantes dos esfregaços fecais e coloração pelo método de Ziehl-Neelsen.

a)



b)



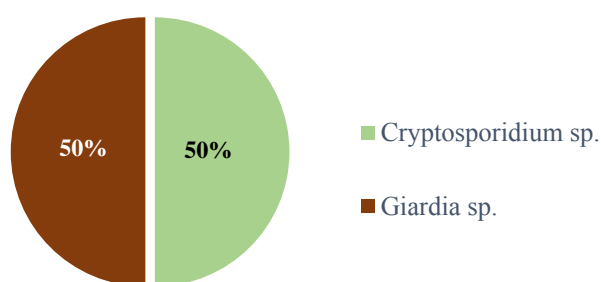
Legenda: a) quistos de *Giardia* sp. (setas pretas) em *Streptopelia turtur*; b) oocistos de *Cryptosporidium* sp. (setas pretas) em *Athene noctua*.

Tabela 6. Prevalências de parasitismo para cada espécie de ave positiva e respectivos protozoários observados nos esfregaços fecais.

			Positivos	<i>Cryptosporidium</i> sp.	<i>Giardia</i> sp.
I	<i>Streptopelia turtur</i> (n=1)	P	100 [5 – 100]	---	100 [5 – 100]
R	<i>Athene noctua</i> (n=11)	P	9.1 [0.5 – 40.4]	9.1 [0.5 – 40.4]	---

Legenda: P: Prevalência (% de aves parasitadas); n: número da amostra; [] : intervalo de confiança de 95%. I: espécie pertencente ao grupo “Outras”, ordem Columbiformes; R: rapinas.

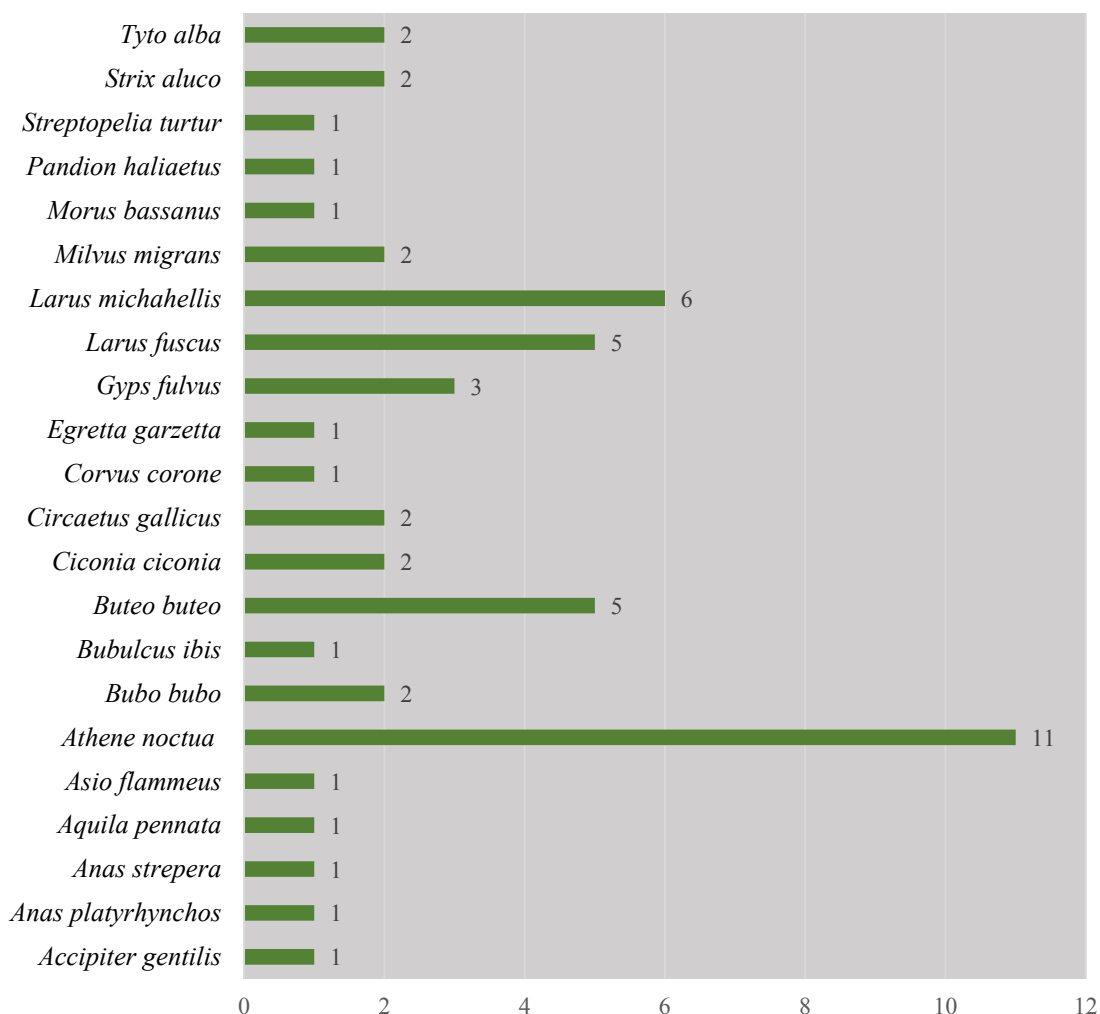
Gráfico 34. Prevalências dos diferentes protozoários intestinais observados em esfregaços fecais, no total das amostras positivas (n=2).



3.5. Pesquisa de Hemoparasitas – Esfregaços sanguíneos

Para a pesquisa de hemoparasitas foram colhidas 53 amostras de 22 espécies de aves diferentes. A espécie mais frequente foi a *Athene noctua* a ser representada por 11 indivíduos; seguindo-se mais uma espécie de rapina, *Buteo buteo*, contribuindo com cinco indivíduos, e duas espécies marinhas, *Larus michahellis* e *Larus fuscus* com uma representatividade de seis e cinco indivíduos, respetivamente. Com exceção da espécie *Gyps fulvus* representada por três amostras, as restantes espécies contribuíram com um ou dois indivíduos para a população que foi analisada através de esfregaços sanguíneos.

Gráfico 35. Número de indivíduos analisados para pesquisa de hemoparasitas, para cada espécie de Aves, por ordem alfabética decrescente.



3.5.1. Grupos de Aves

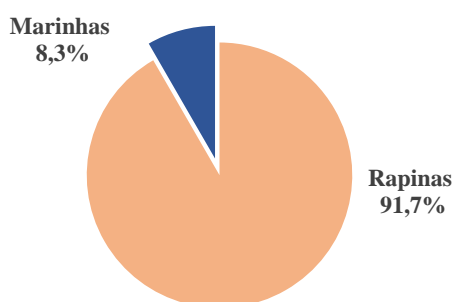
No total das amostras analisadas ($n=53$), podemos verificar que 22,6% (12/53) foram positivas para parasitas (Tabela 7.). Somente as rapinas e as marinhas se mostraram infetadas, sendo que a esmagadora maioria das aves parasitadas pertence às rapinas, correspondendo a 91,7% (11/12) dos resultados positivos (Gráfico 36.). Este grupo obteve uma prevalência de 33,3% (11/33) de indivíduos parasitados (Tabela 7.). No grupo das aves marinhas somente um indivíduo foi positivo o que se revela numa prevalência de 8,33% (1/12) no total de amostras parasitadas (Gráfico 36.). Relativamente aos diferentes grupos de aves, não se encontraram associações estatisticamente significativas ($p=0,245$; $p>0,05$).

Tabela 7. Prevalência de parasitismo em amostras obtidas por esfregaço sanguíneo, nos diferentes grupos de Aves.

	<i>N</i>	Nº POSITIVOS	P
MARINHAS	15	1	6.7 [0.2 – 32.0]
AQUÁTICAS	2	0	0 [0 – 77.6]
PASSERIFORMES	1	0	0 [0 – 73.1]
RAPINAS	33	11	33.3 [19.4 – 51.5]
ESTEPÁRIAS	0	-	-
OUTRAS	2	0	0 [0 – 84.2]
TOTAL	53	12	22.6 [12.9 – 35.8]

Legenda: P: prevalência (% de aves parasitadas); *n*: número de indivíduos; []: intervalo de confiança de 95%.

Gráfico 36. Prevalências de indivíduos parasitados em cada grupo de Aves relativamente ao total de resultados positivos (*n*=12). Nota: foram excluídos todos os outros grupos pois não apresentaram resultados positivos.



3.5.2. Grupo etário

As aves adultas, para além de representarem o maior número de amostras (*n*=22) foram as que representaram a maior percentagem de parasitismo no total das amostras positivas (33% - 4/12) em relação às aves em faixa etária determinada. Por ordem decrescente de amostras positivas seguem-se os juvenis e as crias com prevalências de 17% (2/12) e 8% (1/12), respetivamente, no total de indivíduos positivos (Gráfico 38.). Os juvenis constituíram o grupo etário mais parasitado, sendo que em 10 amostras analisadas, duas foram positivas, o que corresponde a 20% dos indivíduos nesta faixa etária (Gráfico 37.). As aves com idade indeterminada, apesar de não ter sido o grupo mais frequente, foi o que apresentou uma maior prevalência para

hemoparasitas (42%-5/12) no total dos resultados positivos (Gráfico 38.) e na globalidade das amostras (Gráfico 37.). Não foram assinaladas associações estatisticamente significativas de acordo com o grupo etário ($p = 0,769$; $p > 0,05$).

Gráfico 37. Número de indivíduos positivos e negativos para hemoparasitas nos diferentes grupos etários.

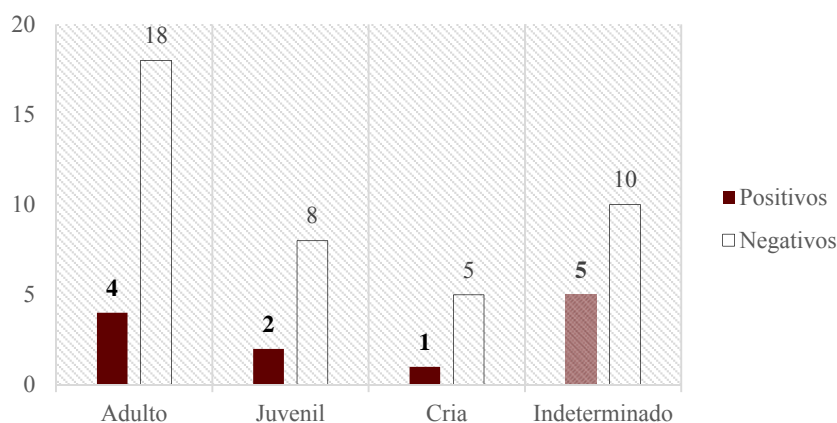
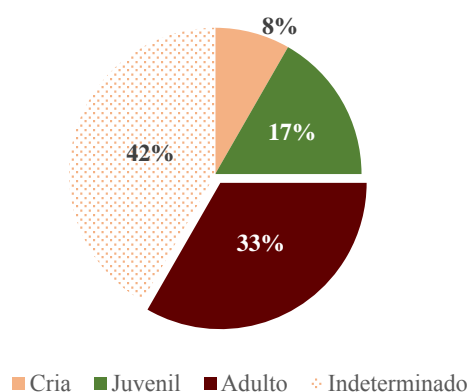


Gráfico 38. Percentagens de indivíduos positivos para hemoparasitas segundo o grupo etário ($n=12$).



3.5.3. Habitat

Sendo que a grande maioria das aves parasitadas foram rapinas, como evidenciado acima, isto significa que, relativamente ao habitat, as aves terrestres representam quase a totalidade das amostras positivas (91,7% - 11/12) (Gráfico 40.). Das aves aquáticas analisadas para hemoparasitas, 5,88% (1/17) encontravam-se parasitadas e, entre as terrestres ($n=36$), 11 indivíduos mostraram-se positivos para parasitas, o que corresponde a 30,56% da população terrestre amostrada (Gráfico 39.). Foram observadas associações estatisticamente significativas relativamente ao habitat das aves em estudo ($p = 0,041$; $p \leq 0,05$).

Gráfico 39. Número de indivíduos negativos e positivos para hemoparasitas nos diferentes habitats. Terrestre: $n=36$; Aquático: $n=17$.

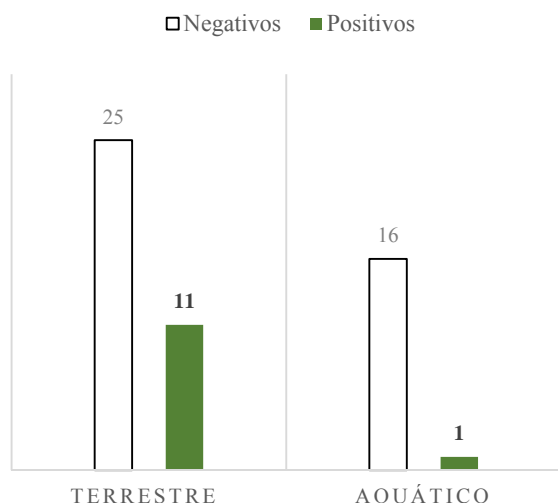
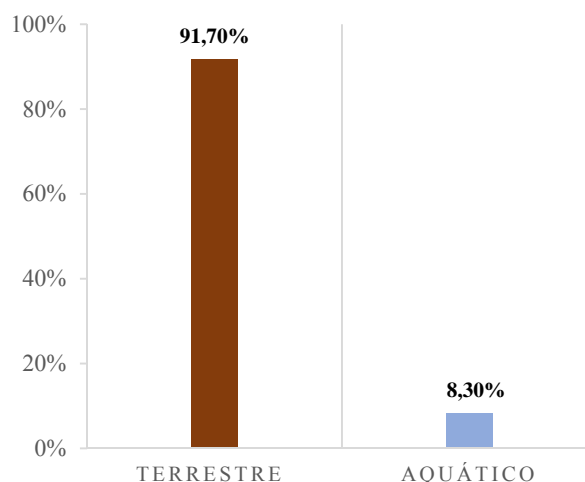


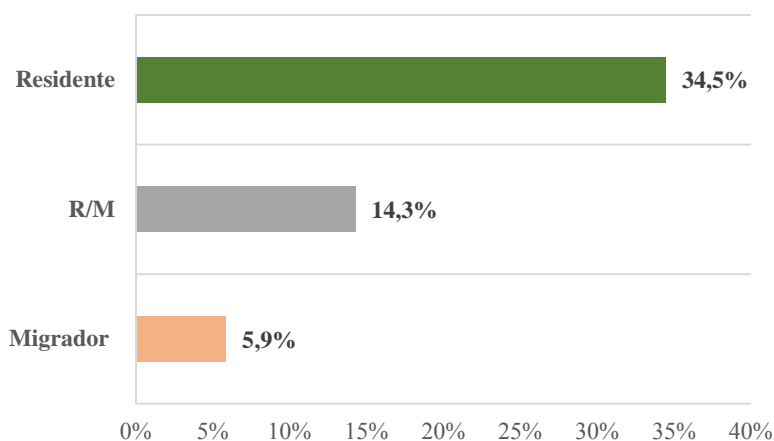
Gráfico 40. Percentagens de aves positivas para protozoários sanguíneos, segundo o seu habitat ($n=12$).



3.5.4. Estatuto fenológico

As aves com estatuto de residente mostraram-se mais parasitadas que as migradoras com 34,48% (10/29) dos seus indivíduos parasitados. Nas aves migradoras a prevalência de parasitismo foi de 5,88% (1/17). As espécies que possuem estatuto misto R/M apresentaram uma prevalência de 14%, contendo um indivíduo parasitado entre os sete que foram analisados. Verificaram-se associações estatisticamente significativas consoante o estatuto fenológico ($p=0,032$; $p \leq 0,05$).

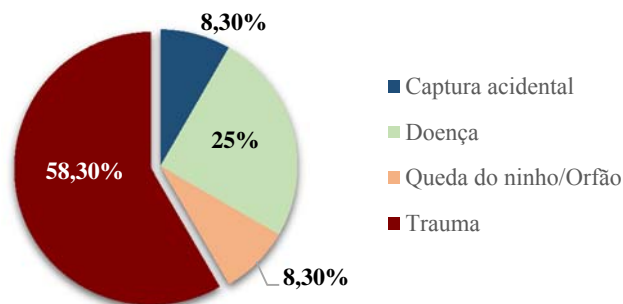
Gráfico 41. Prevalências de parasitismo de acordo com o estatuto fenológico. Residente: $n=29$; Migrador: $n=17$; R/M: $n=7$.



3.5.5. Causa de ingresso

Das amostras de indivíduos parasitados, a principal causa de ingresso foi por trauma (58,30% - 7/12) e a segunda, o correspondente a 25% (3/12) das aves infetadas, foi por doença (de etiologia indeterminada). As restantes amostras positivas pertencem a aves que ingressaram por captura accidental ou queda do ninho/órfão (8,30% - 1/12). Relativamente às causas de ingresso, não foram encontradas associações estatisticamente significativas ($p = 0,057$; $p > 0,05$).

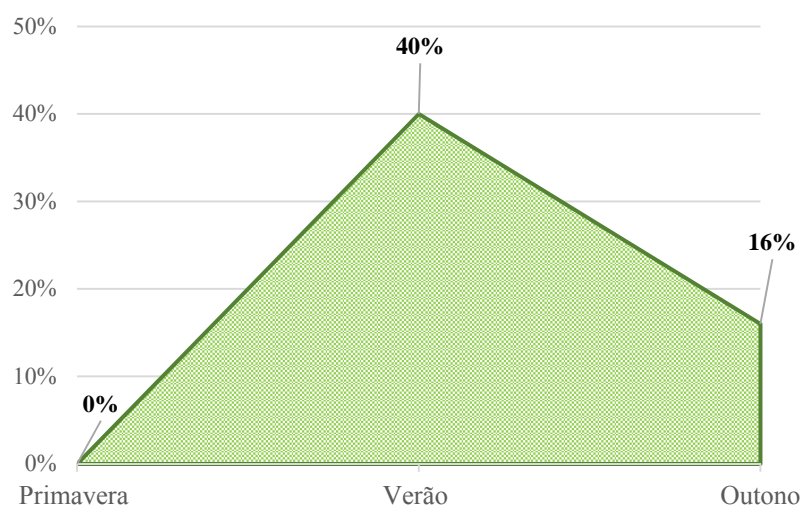
Gráfico 42. Percentagens das causas de ingresso de aves positivas para hemoparasitas ($n=12$).



3.5.6. Clima

No verão houve uma maior prevalência de indivíduos infectados por hemoparasitas, sendo que 40% (8/20) das aves analisadas nesta estação se encontravam parasitadas. No outono a prevalência decresceu para 16% (4/25). A estação da primavera não revelou quaisquer amostras positivas nos oito indivíduos em que se realizaram esfregaços sanguíneos. Pode verificar-se a ocorrência de associações estatisticamente significativas para as estações do ano em estudo ($p = 0,05$; $p \leq 0,05$); no verão as aves apresentaram-se claramente mais parasitadas do que na primavera ou no outono.

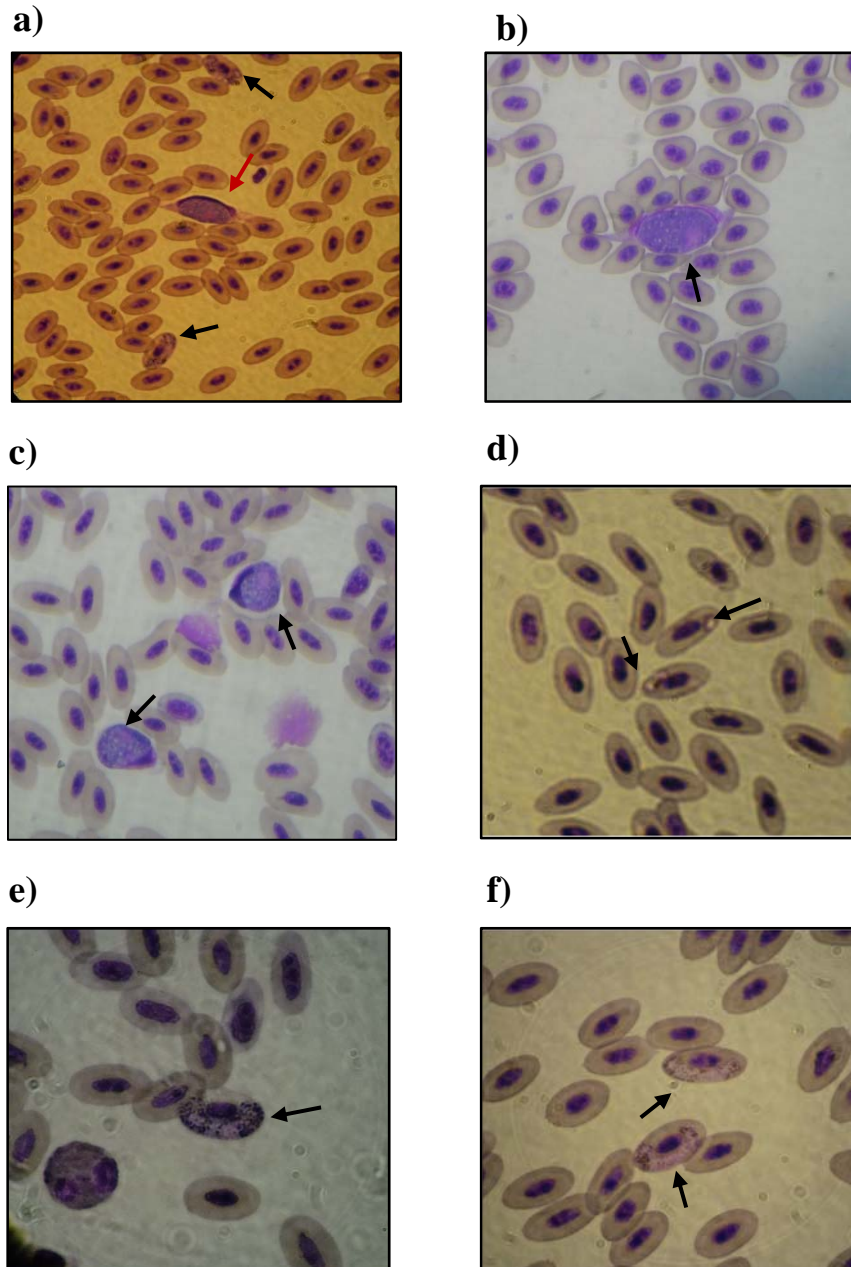
Gráfico 43. Prevalências dos resultados positivos para parasitas assinalados em esfregaços sanguíneos, nas diferentes estações do ano, durante o tempo em que decorreu o estudo. Primavera: $n=8$; verão: $n=20$; outono: $n=25$.



3.5.7. Hemoparasitas observados e prevalências parasitárias

Seguidamente serão apresentadas fotografias originais dos géneros parasitários assinalados nos esfregaços sanguíneos observados ao microscópio ótico.

Figura 6. Observações microscópicas resultantes da pesquisa de hemoparasitas [x1000].



Legenda: **a)** Forma fusiforme de gametócito de *Leucocytozoon* sp. (seta vermelha) e microgametócitos de *Haemoproteus* sp. (setas pretas) em *Bubo bubo*; **b)** Forma arredondada de gametócito de *Leucocytozoon* sp. (seta preta) em *Athene noctua*; **c)** Formas redondas de macrogametócito de *Leucocytozoon* sp. (setas pretas) em *Larus michahellis*; **d)** Trofozoítos de *Plasmodium* sp. (setas pretas) em *Athene noctua*; **e)** Microgametócitos de *Haemoproteus* sp. (seta preta) em *Bubo bubo* **f)** Macrogametócito de *Haemoproteus* sp. (seta preta) em *Bubo bubo*.

Das espécies de aves positivas para parasitas sanguíneos as que apresentaram uma maior prevalência, designadamente taxas de prevalência de 100% (*Asio flammeus* e *Bubo bubo*) e 50% (*Strix aluco* e *Tyto alba*), representam valores muito pouco expressivos pois foram analisados um ou dois indivíduos em cada espécie. A espécie *Athene noctua*, com maior expressividade, dado que foram analisados 11 indivíduos, obteve uma taxa de prevalência de 45,5% (5/11); neste hospedeiro o género *Leucocytozoon* sp. foi o que se mostrou mais prevalente ocorrendo em 36,4% (4/11) das amostras analisadas, seguindo-se os géneros *Haemoproteus* (2/11) e *Plasmodium* (1/11). Com taxas de parasitismo menores surgiram as espécies *Buteo buteo*, com 20% (1/5) de resultados positivos e *Larus michahellis*, com prevalência de 16,7% (1/6) (Tabela 8.). Ocorreram associações parasitárias em 41,7% (5/12) das amostras parasitadas, sendo que 36,4% (4/12) corresponde a associações *Leucocytozoon* sp. / *Haemoproteus* sp. e 8,3% (1/12) a associação *Haemoproteus* sp. / *Plasmodium* sp. (Tabela 9). *Leucocytozoon* sp. foi o parasita mais observado no total das amostras, obtendo uma taxa de prevalência de 47,1% (8/17), seguindo-se *Haemoproteus* sp. com 41,7% (7/17) e *Plasmodium* sp. com 11,8% (2/17) (Gráfico 44.)

Tabela 8. Prevalências de hemoparasitas para cada espécie hospedeira e respectivas prevalências de parasitismo em cada espécie.

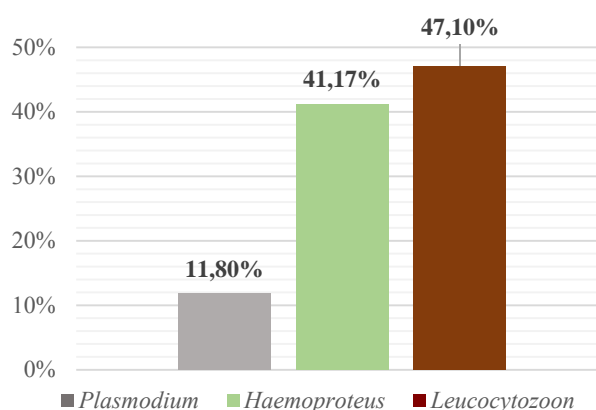
			Positivos	<i>Haemoproteus</i> sp.	<i>Leucocytozoon</i> sp.	<i>Plasmodium</i> sp.
M	<i>Larus michahellis</i> (n=6)	P	16.7 [0.9 - 58.9]	16.7 [0.9 - 58.9]	----	16.7 [0.9 - 58.9]
	<i>Athene noctua</i> (n=11)	P	45.5 [20 - 73.5]	18.2 [3.3 - 50]	36.4 [13.5 - 66.7]	9.1 [0.5 - 40.4]
R	<i>Asio flammeus</i> (n=1)	P	100 [5 - 100]	----	100 [5 - 100]	----
	<i>Bubo bubo</i> (n=2)	P	100 [22.4 - 100]	100 [22.4 - 100]	100 [22.4 - 100]	
	<i>Buteo buteo</i> (n=5)	P	20 [1 - 65.7]	20 [1 - 65.7]	----	----
	<i>Strix aluco</i> (n=2)	P	50 [2.5 - 93.7]	----	50 [2.5 - 93.7]	----
	<i>Tyto alba</i> (n=2)	P	50 [2.5 - 93.7]	50 [2.5 - 93.7]	----	----

Legenda: P: Prevalência (% de aves parasitadas); n: número da amostra; [] : intervalo de confiança de 95%. M: Aves marinhas; R: rapinas.

Tabela 9. Associações parasitárias encontradas e respectivas espécies de hospedeiros.

Parasitas	Hospedeiros
<i>Leucocytozoon</i> sp. / <i>Haemoproteus</i> sp.	<i>Athene noctua</i> (n=2)
	<i>Bubo bubo</i> (n=2)
<i>Haemoproteus</i> sp. / <i>Plasmodium</i> sp.	<i>Larus michahellis</i> (n=1)

Gráfico 44. Prevalências dos diferentes géneros parasitários observados nas amostras de sangue positivas (n=12).



3.6. Associações parasitárias

No total das aves analisadas pelas três técnicas, dois indivíduos pertencentes à espécie *Athene noctua* apresentaram associações parasitárias com relação aos diferentes métodos de análise. Uma das aves apresentou-se positiva para ovos de *Capillaria* sp., de acordo com o método coprológico de Flutuação de Willis e positiva também para *Leucocytozoon* sp., através da observação dos esfregaços sanguíneos. Outra ave obteve amostras positivas nas três técnicas, sendo que se encontrava infectada por *Capillaria* sp., *Leucocytozoon* sp. e *Cryptosporidium* sp.

Tabela 10. Associações parasitárias encontradas em aves analisadas para os diferentes métodos e respectivas espécies de hospedeiros.

Parasitas	Hospedeiros
<i>Leucocytozoon</i> sp. / <i>Capillaria</i> sp.	<i>Athene noctua</i>
<i>Capillaria</i> sp. / <i>Leucocytozoon</i> sp. / <i>Cryptosporidium</i> sp.	<i>Athene noctua</i>

4. Discussão

O presente estudo foi constituído por três populações amostrais em que se pesquisaram diferentes tipos de parasitas. Foram recolhidas amostras de fezes para pesquisa de ovos/oocistos de parasitas intestinais, realizados esfregaços fecais para possível observação de *Cryptosporidium* spp. e/ou *Giardia* sp. e obtidas amostras de sangue para hemoparasitas. As aves analisadas constituíram um grupo bastante heterogéneo, pertencentes a diversas espécies de grupo etário, fenologia e habitat distintos. No entanto, as rapinas foram as melhor representadas no geral e em particular para cada método, constituindo 40,15% da população; posto isto, pode inferir-se que o habitat foi, maioritariamente, terrestre. Os indivíduos adultos e as crias representaram a maioria das amostras, 34,85% e 29,55% respetivamente, e as aves com idade indeterminada fizeram parte da análise estatística por abranger um número relevante de indivíduos e por conter amostras positivas para parasitas. A maior parte das aves detinha estatuto de residente, em Portugal Continental, e as de estatuto misto (R/M) foram englobadas na análise de prevalências quando continham indivíduos parasitados.

De uma forma global, e abarcando todos os tipos de parasitismo observado neste rastreio, houve uma prevalência de 22% de aves infetadas. As rapinas foram as que apresentaram um maior número de amostras parasitadas, mas possivelmente devido ao facto de terem sido analisados mais indivíduos deste grupo. O grupo que apresentou maior prevalência de parasitismo foram as aves estepárias com 44,4% dos seus indivíduos infetados. No conjunto das espécies estudadas, *Athene noctua* foi a mais frequente e também a mais parasitada, juntamente com a espécie *Falco naumanni*. A grande parte das espécies de aves que se mostraram positivas para parasitas detêm estatuto de conservação Pouco Preocupante (LC), no entanto existem quatro exceções: 1) *Falco naumanni* – Vulnerável (VU); 2) *Larus fuscus* – Vulnerável como nidificante e Pouco Preocupante como invernante (VU / LC); 3) *Asio flammeus* – Em Perigo (EN); 4) *Bubo bubo* – Quase Ameaçado (NT), em conformidade com o Livro Vermelho dos Vertebrados em Portugal (ICNF, 2005). As crias, apesar de não constituírem o grupo etário mais pesquisado, foi o que se apresentou mais parasitado, representando 37,93% das amostras positivas. De acordo com Sol, Jovani e Torres (2003), têm sido propostas algumas hipóteses para o facto de as crias se apresentarem mais parasitadas que os adultos, nomeadamente: i) crias com infeções parasitárias muito extensas morrem antes de se incluírem nas populações adultas; ii) desenvolvimento de imunidade adquirida pelo hospedeiro relativamente ao parasita, o que faz com que se reduza a intensidade parasitária nos hospedeiros adultos; iii) diferenças comportamentais fazem com que os adultos se encontrem menos expostos ao parasita.

Nas análises coprológicas pelo método de Flutuação de Willis observaram-se 24% de amostras positivas. A grande parte dos estudos realizados em Portugal são focados em espécies de rapinas

e os helmintes são observados aquando da realização de necrópsias, portanto torna-se difícil fazer uma comparação de prevalências parasitárias, uma vez que este estudo foi efetuado pela análise de amostras fecais e abarcou diversas espécies correspondentes a diferentes ordens de aves. Em Portugal, Tomás (2015), através da execução de necrópsias para observação de parasitas intestinais, analisou igualmente aves de ordens distintas e obteve uma prevalência de 54,55% para helmintes. Esta prevalência superior à verificada no presente estudo pode dever-se ao facto de as técnicas coprológicas serem pouco específicas, pela dificuldade de diagnóstico através da observação dos ovos, e serem pouco sensíveis, dado que a eliminação das formas parasitárias ocorre em período patente, podendo ser variável de acordo com o parasita, a estação do ano ou mesmo com a hora do dia (Krone & Cooper, 2002; Tomás, 2015); neste caso a quantidade de fezes colhida era pouca e a amostragem era executada quando se obtinham fezes frescas, independentemente da altura do dia.

Num estudo realizado em Espanha, em que se pesquisaram parasitas intestinais e hemáticos num jardim ornitológico, foram encontrados parasitas em 51,6% das amostras fecais (Cordón *et al.*, 2009). Já em Itália foram analisadas aves domésticas e de zoológico para endoparasitas e ocorreram prevalências parasitárias de 27% e 42,2%, respectivamente (Papini *et al.*, 2011). Na Grécia, Papazahariadou *et al.* (2008), obteve prevalência parasitária correspondente a 77,2% em diferentes espécies de aves de vida livre e de cativeiro. Panayotova-Pencheva (2013) efetuou uma revisão de vários estudos para parasitas em diversos zoológicos europeus e num estudo realizado em aves, na Turquia, obteve-se uma prevalência parasitária de 34,3%. Em todos os trabalhos a pesquisa foi realizada através de métodos coprológicos, com exceção da investigação na Grécia em que foram executadas necrópsias e análises fecais *post-mortem*. Com estes dados podemos inferir que a prevalência de parasitismo intestinal no presente estudo também é, de facto, inferior às prevalências assinaladas noutros países europeus. A possível justificação, como já referido acima, será pelo facto de a amostragem ter sido feita somente uma vez para cada ave e em alturas do dia aleatórias, o que poderá revelar tratar-se de uma análise com pouca sensibilidade, uma vez que a excreção de ovos/oocistos é dependente de vários factores e reservada ao período patente. López, Figuerola e Soriguer (2006) sugerem, num estudo envolvendo duas espécies de Passeriformes com dietas distintas (granívora e insectívora), que a eliminação de oocistos de coccídias depende de parâmetros fisiológicos, nomeadamente a idade e os hábitos alimentares, e que apresenta claramente ritmos circadianos, sendo que a maior excreção ocorre durante a tarde. Para além disto, só foi realizado o método de flutuação, o que pode restringir o estudo aos nematodes e cestodes, sendo que o método de sedimentação é mais adequado para a pesquisa de trematodes e acantocéfalos (Bowman, 2014). Nos estudos mediterrânicos baseados em análises coprológicas de aves silvestres e exóticas,

verifica-se que a maioria dos géneros parasitários encontrados pertencem aos nematodes (capilarídeos do género *Capillaria*; ascarídeos pertencentes aos géneros *Ascaridia*, *Heterakis*, *Contracaecum*, *Porrocaecum*; espiurídeos da família Acuariidae; rhabditídeos dos géneros *Strongyloides* e *Trichostrongylus*) e coccídias (géneros *Eimeria* e *Isospora*), seguindo-se os cestodes e trematodes. *Cryptosporidium* e *Giardia* também são frequentemente observados (Martinho & Melo, 2006; Papazahariadou *et al.*, 2008; Córdón *et al.*, 2009; Papini *et al.* 2011; Panayotova-Pencheva, 2013). Neste trabalho, os capilarídeos foram os que representaram a maior fatia do bolo parasitário, seguindo-se as coccídias, os cestodes e, por fim, os ascarídeos. *Cryptosporidium* e *Giardia* serão analisados mais adiante, quando se discutir os resultados dos esfregaços fecais, que constituem outra amostra.

O grupo de aves que apresentou um maior número de indivíduos parasitados foi o grupo das rapinas. Como referido anteriormente, isto poderá dever-se ao facto de ter sido o grupo com maior número de aves analisadas. No entanto, as aves estepárias foram as que surgiram com maior prevalência parasitária, estatisticamente significativa, com 66,7% de indivíduos infetados. No presente estudo, como se pode verificar no Anexo I, as espécies pertencentes ao grupo das estepárias são espécies que habitam no ambiente de estepe e que representam estatuto de conservação Vulnerável (VU) ou Em Perigo (EN). As aves positivas que constituem o grupo das estepárias pertencem à espécie *Falco naumanni*. Não existem estudos direccionados à helmintofauna realizados em Portugal que contenham espécies pertencentes às estepárias nem relativos à espécie *Falco naumanni*, sendo este o primeiro registo parasitológico referente à espécie. Em Espanha, foram realizadas duas pesquisas em aves estepárias, nomeadamente em abetardas (*Otis tarda*) e sisões (*Tetrax tetrax*). Villanúa *et al.* (2006) relataram, pela primeira vez, *Eucoleus contortus* na espécie *Tetrax tetrax* após realização de necrópsias; esta espécie nematoide nunca tinha sido encontrada em aves da família Otidae, mas segundo Villanúa *et al.*, foi observada em 7,7% de aves da espécie *Alectoris rufa* (Perdiz vermelha), também considerada uma ave estepária, num outro estudo realizado mas não publicado pelos autores. García-Montijano *et al.* (2002), ao pesquisar alterações *post-mortem* em abetardas, num estudo concretizado também em Espanha, puderam verificar que todas as abetardas em estudo se encontravam parasitadas por cestodes. Também foram encontrados nemátodes, nomeadamente ascarídeos do género *Heterakis*, ao nível de ceco, e *Capillaria* sp. e *Trichostrongylus* sp. em fezes. Shuster *et al.* (2016), no Dubai, reportaram *Avispora megafalconis* em duas espécies estepárias pertencentes à família Otidae (*Chlamydotis macqueenii* e *C. undulata*), através da análise de sequências genéticas de RNA de *Avispora* presente em falcões e em abetardas, comprovando que se tratava da mesma espécie que parasitava ambos os hospedeiros. Relativamente à ave estepária parasitada no presente estudo, são raros os trabalhos que incidam

na fauna parasitária intestinal. Dos indivíduos da espécie *Falco naumanni* analisados, 80% apresentaram parasitismo por coccídias. Trabalhos efectuados por Peitersens e Symes (2009), Pérez-Granados (2010) e Bounas e Sotiropoulos (2017), na África do Sul, em Espanha e na Grécia, respetivamente, confirmam a natureza insectívora desta espécie falconiforme e supõem que os pequenos mamíferos e répteis são predados ocasional e oportunisticamente. Pérez-Granados (2010) relata, inclusive, que os invertebrados compreendem 99,6% da dieta de *Falco naumanni* no sul de Portugal, sendo que as presas principais correspondem a invertebrados das ordens Coleoptera e Orthoptera. Sendo que as coccídias, particularmente *Avispora* spp., possuem ciclos heteroxenos e utilizam normalmente roedores como HI (Lacasse, 2015), ou secundários, segundo Lindsay e Todd (1993), faria sentido justificar a prevalência de coccídias numa espécie falconiforme, se a sua dieta fosse em grande parte constituída por pequenos mamíferos; o que não acontece nesta espécie. Por outro lado, sabe-se que o habitat de alimentação das aves estepárias está ameaçada devido a vários fatores, designadamente: i) intensificação da agricultura; ii) florestação de terras agrícolas; iii) expansão de cultivos lenhosos; iv) abandono agrícola e de pastoreio extensivo (ICNF, 2000), o que diminui as populações de invertebrados terrestres nas estepes. Esta ameaça poderá causar mudanças de hábitos alimentares e transformar os pequenos mamíferos em principais presas; isto justificará, hipoteticamente, a infeção observada. Outra hipótese que fundamenta indivíduos da mesma colónia estarem parasitados, pode ser a possível utilização do ciclo de vida direto pelas coccídias, por se tratarem de crias, uma vez que a transmissão é facilitada nesta faixa etária pela proximidade na partilha dos ninhos e pelo desenvolvimento incompleto da imunidade (Krone, 2002; Carrega, 2016).

De acordo com a bibliografia disponível, as duas espécies de coccídias já assinaladas em *Falco naumanni* foram *Isospora scholtysecki* (Duszynski, Couch & Upton, 1999) e *Eimeria accipitris* (Cawthorn, 1993).

As rapinas foram o segundo grupo que se apresentou mais parasitado com 36,4% dos seus indivíduos infetados. Pela análise de estudos nacionais anteriores (nomeadamente Magalhães, Gonçalves, Afonso-Roque & Madeira de Carvalho, 1998; Antunes, 2015; Carrega, 2016; com prevalências de 41%, 36,9% e 21,9%, respectivamente) concretizados através da pesquisa por métodos coprológicos, podemos notar que a prevalência de parasitismo em rapinas no presente trabalho se encontra, em termos médios, em conformidade com os valores já observados. Recorrendo a estudos europeus, particularmente em Espanha, Alemanha e Holanda, a prevalência encontrada neste estudo é expressivamente mais baixa, uma vez que em todos os trabalhos especificados a prevalência ocorre num mínimo de 65% (Krone, 2000; Sánchez-Andrade *et al.*, 2002; Borgsteede, Okulewicz, Zoun & Okulewicz, 2003; Ferrer, Molina,

Castellà & Kinsella, 2004). No entanto, excetuando a pesquisa efetuada por Sánchez-Andrade *et al.* (2002) que recorreram a análises de fezes e egagrópilos, os restantes estudos focam-se em necrópsias, por si só, um método de pesquisa mais viável e sensível. A análise dos egagrópilos, no trabalho referenciado acima, também acrescenta informação e torna a pesquisa mais exhaustiva. Estes factos poderão explicar a menor prevalência no nosso trabalho, aliado ao que já foi explicado anteriormente com relação às análises coprológicas.

Os indivíduos que se encontraram parasitados são de espécies noturnas, pertencentes aos Strigiformes, nomeadamente *Athene noctua* e *Tyto alba*. A ordem dos Strigiformes encontrou-se, então, parasitada com uma taxa de prevalência de 53,33%, o correspondente a um indivíduo da espécie *Tyto alba* e sete indivíduos *Athene noctua*. A nível nacional, Magalhães *et al.* (1998) e Carrega (2016) apresentaram prevalências relativamente mais baixas, ainda que a prevalência de Magalhães *et al.* (1998) estivesse bastante próxima (50%). Já Illescas, Rodriguez e Maza (1993) e Ferrer *et al.* (2004), trabalhos realizados em Espanha, obtiveram prevalências em Strigiformes de 64,3% e 65%, respetivamente; no entanto convém referir que estas prevalências foram obtidas através da observação de necrópsias, fator que pode ser relevante quando se fazem comparações a este nível, uma vez que são métodos distintos e com sensibilidade diferente. Com relação às espécies parasitadas, *Athene noctua* obteve 70% de parasitismo, enquanto que em *Tyto alba* observou-se 50% dos indivíduos positivos, apesar da amostra analisada da última espécie ter sido muito pequena. Ferrer *et al.* (2004), também obtiveram um maior parasitismo em mochos-galegos (86,7%) e uma prevalência de 53,3% em corujas-das-torres, estando os valores do presente trabalho em conformidade com os resultados destes autores.

As rapinas diurnas não apresentaram resultados positivos para parasitas, o que não vai ao encontro da totalidade dos estudos e que poderá estar relacionado com o baixo número de indivíduos analisados nesta ordem. De acordo com Krone (2000), estas desigualdades podem ser explicadas pelas diferentes espécies e número de aves analisadas e pela diversidade de regiões e habitats que influem na multiplicidade e quantidade de HI, que são necessários à concretização dos ciclos de vida de alguns parasitas.

Os parasitas encontrados nas rapinas noturnas pertencem ao género *Capillaria* e às coccídias, sendo que nestas não foi possível fazer uma identificação mais aprofundada por se terem observado somente oocistos não esporulados. *Capillaria* sp., a grande representante dos nematodes neste estudo, foi observada em 27,2% das rapinas investigadas e surgiu em 50% dos mochos-galegos (*Athene noctua*) analisados. Na coruja-das-torres (*Tyto alba*), a percentagem ocupada pela *Capillaria* foi de 50%, mas supõe-se ser um valor pouco expressivo, uma vez que só foram analisados dois indivíduos desta espécie. Fazendo uma revisão pelas outras

investigações semelhantes a nível nacional, podemos afirmar que a prevalência de *Capillaria* sp. foi idêntica à observada por Magalhães *et al.* (1998) e superior à verificada por Carrega (2016). No entanto, foi inferior ao trabalho realizado na Galiza em amostras de fezes e egagrópilos (Sánchez-Andrade *et al.*, 2002). Sanmartín, Álvarez, Barreiro e Leiro (2004), também em Espanha, mas através de investigação parasitária em aves sujeitas a necrópsia, obteve um valor similar de parasitismo por *Capillaria* sp. em *Athene noctua* (55,6%) e, no entanto, um valor inferior em *Tyto alba* (6,1%). Segundo Papazahariadou *et al.* (2008), *Capillaria tenuissima*, *C. falconis* e *Eucoleus dispar* são as espécies de capilarídeos mais frequentemente encontradas em rapinas na Europa.

A prevalência deste género parasitário ocorre possivelmente devido à dieta dos hospedeiros. As principais presas de *Tyto alba* são pequenos mamíferos roedores e uma pequena parte da dieta poderá ser constituída por aves, anfíbios e artrópodes; *Athene noctua* tem uma dieta bastante diversificada, ingerindo principalmente insetos, mas pode ingerir roedores, répteis e pequenas quantidades de minhocas (Sanmartín *et al.*, 2004; Alivizatos, Goutner & Zogaris, 2005). Posto isto, e sabendo que espécies de *Capillaria* utilizam roedores e anelídeos, como HP e HI, no seu ciclo indireto, uma possível justificação para a presença do parasita nestas duas espécies Strigiformes é a utilização das presas na sua dieta.

Relativamente à prevalência de coccídias, observaram-se em 18,18% das rapinas em estudo, tendo sido o mocho-galego o único hospedeiro e correspondendo a 40% dos indivíduos analisados desta espécie. Carrega (2016) obteve exatamente a mesma prevalência de coccídias em *Athene noctua*, embora tivesse obtido uma prevalência ligeiramente mais baixa para as aves de rapina em geral (13,9%). Muito recentemente foi reportada, também em Portugal, uma prevalência de parasitismo por coccídias de 67%, na mesma espécie hospedeira (Cardozo *et al.*, 2017). A prevalência de coccídias em aves de rapina poderá justificar-se, tal como a presença de *Capillaria*, pelos hábitos alimentares dos hospedeiros. Trabalhos elaborados por Volf, Modrý e Koudela (2001) e Amo *et al.* (2005) vieram corroborar a ideia de que roedores, como o rato do campo, e répteis, como o lagarto mediterrânico (*Lacerta lepida*), são hospedeiros de coccídias e poderão funcionar como potenciais transmissores (funcionando como HI ou HP) para as aves de rapina, uma vez que constituem potenciais presas.

Na Alemanha, Krone (2000), e em Espanha, Sánchez-Andrade (2002), apuraram prevalências de coccídias de 31,4% e 40,8%, respetivamente. Nestes dois trabalhos as coccídias identificadas mais prevalentes foram *Sarcocystis* sp.; Sánchez-Andrade (2002) para além de *Sarcocystis* sp., também identificou *Eimeria* sp. e *Avispora* sp. Em Portugal também foram encontrados esporocistos, que se sugere serem de *Sarcocystis dispersa*, em *Tyto alba* (Berto, Cardozo, Gomes, Pereira da Fonseca & Lopes, 2014). Cardozo *et al.*, 2016, igualmente em território

português, a par de terem sido identificadas coccídias em 19% de amostras fecais de *Falco tinnunculus*, foi descrita uma nova espécie de *Avispora*, *Avispora peneireiroi* n. sp. Em 2017, os mesmos investigadores descreveram mais uma nova espécie do género, *Avispora galegoi* n. sp., em *Athene noctua* (Cardozo *et al.*, 2017).

Não foram encontrados ovos de cestodes, o que fortalece a ideia, citada por Sánchez-Andrade *et al.* (2002), de que esta classe de parasitas é escassa em aves de rapina. Para finalizar os resultados relativos às rapinas, a ocorrência de parasitismo misto em *Athene noctua* (por *Capillaria* sp. e coccídias) veio ao encontro do estudo concebido por Santoro, Kinsella, Galiero, Uberti e Aznar (2012), em Itália, em que foi concluído que uma maior diversidade parasitária poderá advir de dieta e hábitos alimentares mais diversificados do hospedeiro, como é o caso da espécie em questão, já referido anteriormente.

As aves de habitat aquático, nomeadamente aquáticas (de zonas fluviais, ribeirinhas, lagunares) e marinhas (costeiras e alto-mar), apresentaram prevalências de parasitismo de 25% e 6,7%, respetivamente, sendo que a prevalência geral de aves em meio aquático foi de 14,8%. Segundo Santoro *et al.* (2012), indivíduos que habitam nestes meios apresentam a maior comunidade helmíntica entre aves hospedeiras. No presente trabalho, as aves aquáticas que apresentaram amostras positivas pertencem às espécies *Anas platyrhynchos* (pato-real), com uma prevalência de 66,7%, e *Gallinula chloropus* (galinha-d'água) com 100% de parasitismo; no entanto é de notar que este valor é muito pouco expressivo, uma vez que só foi analisado um indivíduo relativo à espécie. As marinhas foram representadas pela espécie Charadriiforme *Larus fuscus* (gaivota-de-asa-escura), com prevalência parasitária de 33,3%. As duas espécies aquáticas encontravam-se parasitadas por *Capillaria* spp., sendo que *Anas platyrhynchos* encontrava-se igualmente parasitada por ascarídeos (ordem Ascaridida); neste último não foi possível fazer uma identificação mais aprofundada, uma vez que não foram efectuadas medições e os ovos de *Ascaridia* sp. e *Heterakis* sp. poderão ser facilmente confundidos, difíceis de diferenciar (Park & Shin, 2010); o que poderia levar a identificações incorretas. A gaivota-d'asa-escura surgiu também positiva para *Capillaria* spp. De um modo geral, parasitas capilarídeos obtiveram uma prevalência de 14,8% e ascarídeos surgiram em 3,7% das amostras. De acordo com a bibliografia disponível, e tanto quanto se sabe, dois estudos nacionais envolveram aves de meio aquático no estudo da helmintofauna, ainda que só se tivessem pesquisado aves marinhas. Martinho e Melo (2006) analisaram três espécimes marinhos e obtiveram 66,7% de parasitismo, o que é bastante superior ao encontrado no presente trabalho; no entanto, a amostra é relativamente inferior. Entre os indivíduos parasitados surgiu *Larus fuscus*, tal como foi observado neste estudo, o qual se apresentou parasitado por ascarídeos que representaram 33,3% das amostras de aves marinhas. Tomás (2014), também em território português,

identificou parasitas intestinais em três espécies marinhas, sendo que duas delas pertencem à família Laridae, *Larus fuscus* e *Larus michahellis*, e encontraram-se infetadas por espécies de cestodes e espirurídeos, respetivamente, o que não vai ao encontro dos resultados obtidos no presente trabalho. Segundo o autor, no caso das aves marinhas, a transmissão dos parasitas está dependente de HI ou HP com características aquáticas, que fazem parte da sua dieta. No entanto, as gaivotas são omnívoras e alimentam-se tanto em ambientes marinhos como terrestres; são oportunistas e adaptáveis, o que lhes permite desenvolver-se em ambientes humanizados, fazendo com que se tornem suscetíveis à infeção por um grande leque de parasitas (Sanmartín *et al.*, 2005; Álvarez, Cordeiro, Leiro & Sanmartín, 2006). Em estudos europeus, nomeadamente Itália e Espanha, e em conformidade com o que foi encontrado no presente trabalho, espécies de gaivotas são comumente parasitadas por nematodes capilarídeos, nomeadamente *Capillaria* spp. (Santoro *et al.*, 2011) e *Eucoleus contortus* (Sanmartín *et al.*, 2005; Álvarez *et al.*, 2006; Santoro *et al.*, 2011).

Não existem registos, de acordo com a bibliografia analisada, de estudos nacionais que abranjam tanto a espécie *Gallinula chloropus*, como *Anas platyrhynchos*, sendo, portanto este o primeiro a relatar parasitas intestinais nestas duas espécies aquáticas. Em dois trabalhos efetuados por Kinsella, Hon, Reed, e Jr. (1973) e Hoque *et al.* (2014), nos USA e Bangladesh, respetivamente, foram observados nematodes pertencentes ao género *Capillaria* em aves da espécie *Gallinula chloropus*, tal como foi verificado neste estudo, ainda que em prevalência diferentes, uma vez que a amostra era distinta. Hoque *et al.* (2014), para além de *Capillaria* sp., observou igualmente parasitas do género *Ascaridia*. Mohammad, Al-Moussawi e Jasim (2002), ao estudar o conteúdo estomacal de galinhas-d'água verificou a presença de plantas, sementes e fruta, juntamente com insetos, caracóis e minhocas; esta dieta característica da espécie, poderá explicar a presença de capilarídeos, uma vez que podem ser infectados, pelo ciclo direto, através da ingestão de plantas contaminadas ou, pelo ciclo indireto, pela ingestão de anelídeos (nomeadamente minhocas) que funcionam como HI. O comportamento gregário desta espécie na altura da reprodução também poderá contribuir para a diversidade faunística parasitária durante esta época.

Num trabalho concretizado por Papini *et al.* (2011), em Itália, foi encontrada uma prevalência parasitária de 72,7% em Anseriformes, sendo que nematodes capilarídeos estavam presentes em todas as amostras positivas. Na Polónia, Stapf, Kavetska, Ptak e Rząd (2013), referem que os capilarídeos que ocorrem em patos selvagens pertencem a três géneros parasitários - *Capillaria*, *Eucoleus* e *Pseudocapillaria* - e que *A. platyrhynchos* são os hospedeiros mais comuns para *E. contortus*. Já num estudo realizado no norte da Europa por Lebedeva, Yakovleva e Ieshko (2015), a prevalência parasitária para *Anas platyrhynchos* foi de 8%, valor

bastante inferior ao observado em Itália e no presente trabalho; *Capillaria anatis* foi a espécie mais prevalente, correspondendo a 17% dos indivíduos. No Bangladesh, no mesmo estudo referente à espécie galinha-d'água (Hoque *et al.*, 2014), entre 275 indivíduos da espécie *A. platyrhynchos* analisados, 57 obtiveram amostras positivas para nematodes, sendo que 8% correspondiam a *Capillaria* sp., 14% ao género *Ascaridia* e 4% para o género *Heterakis*. A par do que se observou no presente estudo, também ocorreram associações parasitárias por *Ascaridia* sp. e *Capillaria* sp em 0,72% dos indivíduos. A presença destes parasitas no pato-real, tal como na galinha d'água, ocorre pela ingestão dos ovos embrionados, quer através do ciclo direto, quer através do ciclo indireto, uma vez que *A. platyrhynchos*, identicamente ao que foi mencionado para a *Gallinula chloropus*, poderá incluir na sua dieta plantas e/ou anelídeos (HI ou HP).

No que aos Passeriformes diz respeito, a única espécie que se apresentou parasitada foi *Turdus merula* (melro-preto), o correspondente a 11,76% de parasitismo nesta ordem. Em Portugal, os únicos registos encontrados que incluíssem espécies Passeriformes foi por Martinho e Melo (2006), que analisou três espécies de Passeriformes, incluindo *Turdus merula*, mas as amostras foram negativas para parasitas e Cardozo *et al.* (2015), em que foi caracterizada uma nova espécie de coccídia (*Isospora lusitanensis*) num espécime de melro-preto. Posto isto, este será o primeiro registo formal de parasitismo em *T. merula*, por helmintes, em território português. Okulewicz (2013) refere que, num estudo realizado na Hungria e em Itália, entre 1998-2001, foram encontrados ovos de nematodes somente em 6,5% de amostras de fezes de Passeriformes. Na Eslovénia, numa pesquisa levada a cabo por Bandelj, Blagus, Trilar, Vengust e Rataj (2015), verificou-se 15,6% de parasitismo nesta ordem, o que é um valor mais aproximado do que foi observado no presente trabalho.

Os indivíduos *T. merula* representaram 50% do parasitismo da espécie e apresentaram parasitas do género *Capillaria* (5,88%) e cestodes (11,76%), não sendo possível chegar a uma melhor identificação pela falta de meios adequados e, segundo a bibliografia pesquisada a respeito, é muito pouco provável conseguir-se chegar ao género somente pela observação dos ovos. Na República Checa, ao serem analisadas comunidades de *T. merula*, urbanizadas e silvestres, obteve-se uma prevalência geral de parasitismo de 93,1% (Sitko & Zaleśny, 2012). Em diferentes estudos europeus, nomeadamente Espanha, República Checa e Polónia (Martinez *et al.*, 1977; Okulewicz & Sitko, 2012; Sitko & Zaleśny, 2012; Rząd *et al.*, 2014; respectivamente), a espécie de cestode mais prevalente em Passeriformes é *Dilepis undula*, encontrado frequentemente no melro-preto. Entre os capilarídeos, a espécie *Baruscapillaria ovopunctata* já foi reportada em *T. merula*, de acordo com Okulewicz e Sitko (2012). Num estudo realizado por estes dois investigadores, um dos indivíduos *T. merula* surgiu parasitado

por quatro espécies de helmintes, entre eles um cestode da espécie *D. undula*, resultado que está de acordo com o assinalado em termos qualitativos no presente estudo, sendo que um dos indivíduos se encontrava parasitado por cestodes e nematodes. Okulewicz e Sitko (2012) e Bandelj *et al.* (2015) explicam que infeções por várias espécies de helmintes na família Turdidae estão associadas com a sua dieta bastante variada, dado que dietas omnívoras propiciam a uma maior exposição às formas infetantes do parasita. Tanto cestodes como capilarídeos utilizam anelídeos (*Capillaria* sp. e cestodes), insetos e moluscos (cestodes) como hospedeiros HI, nos seus ciclos de vida indiretos; estes invertebrados fazem parte da dieta de *T. merula*, o que se torna evidente que poderão ser parasitados através da ingestão dos estádios infetantes do parasita. *D. undula*, um dos cestodes mais prevalentes na espécie observada, como já referido acima, utiliza a minhoca *Lumbricus terrestris* como HI no seu ciclo de vida (Sitko & Zaleśny, 2012).

Para terminar a discussão referente às análises coprológicas pelo método de flutuação, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no que refere ao grupo etário, ao habitat, ao estatuto fenológico, à causa de ingresso ou ao clima. Relativamente à idade, o facto de as crias surgirem mais parasitadas pode estar relacionado com a sua dieta ser mais estrita e normalmente incluir invertebrados de fácil ingestão e digestão, como é o caso das minhocas, HI e HP para vários helmintes (Rzad *et al.*, 2014). Outra explicação plausível poderá ser o facto dos hospedeiros aumentarem a resposta imunitária com exposição persistente a parasitas, no caso das aves adultas e, portanto, apresentarem um sistema imunitário mais competente em relação às crias (López *et al.*, 2006). O facto das aves residentes se apresentarem mais parasitadas, veio refutar o constatado por Koprivnikar e Leung (2014) e Leung e Koprivnikar (2016) em que se verificou uma riqueza parasitária significativamente alta em aves migratórias, contrariamente às aves residentes. No entanto, e apesar deste facto averiguado, destacam a importância da ecologia (dieta e habitat) na infeção parasitária. Já Bandelj *et al.* (2015), a par do que foi observado no presente trabalho, notaram que a prevalência de parasitas intestinais não estava relacionada com a migração, mas sim com o tipo de dieta e, acima de tudo, com relações filogenéticas. A causa de ingresso mais frequente em aves parasitadas foi por queda do ninho, o que é explicado pelo facto das crias serem as aves mais parasitadas. Apesar de no outono se ter verificado uma maior prevalência parasitária (28,6%), não muito díspar do que foi verificado no verão (25%), nesta última estação foi onde se observaram mais amostras positivas para parasitas. Tal como corroborado por Møller *et al.* (2013), o aumento da temperatura está associado a um aumento geral na abundância parasitária. Bandelj *et al.* (2015) esclarece que o clima é determinante na transmissão parasitária, uma vez que a temperatura

quente e humidade adequadas são essenciais à persistência dos ovos e desenvolvimento larvar no solo e superfícies.

Os parasitas encontrados são transmitidos por via fecal-oral e, neste sentido, o solo, a comida e água contaminadas assumem um papel importante como fontes de infecção parasitária em aves sob condições de cativeiro (Papini *et al.*, 2012), como é o caso dos Centros de Recuperação.

Foram identificados sinais clínicos nos indivíduos *Falco naumanni* infectados por coccídias. Os sinais incluíam diarreia aquosa e/ou sanguinolenta, emaciação, falta de apetite e letargia, que são sinais clínicos presentes e característicos das coccidioses.

Na pesquisa para *Cryptosporidium* e *Giardia* em esfregaços fecais obteve-se uma prevalência de 3,8% para estes protozoários intestinais. *Cryptosporidium* e *Giardia* ocorreram, isoladamente, numa prevalência de 1,9%, o correspondente a uma amostra positiva para cada parasita. As duas amostras positivas pertenceram a uma espécie Strigiforme, *Athene noctua*, que se encontrou parasitado por *Cryptosporidium*, e a uma espécie Columbiforme, *Streptopelia turtur* (pertencente ao grupo “Outras”), que revelou parasitismo por *Giardia*. A par com um estudo efetivado por Reboredo-Fernández *et al.* (2015), na Galiza, e a ocorrência de um surto de *Cryptosporidium* numa espécie de rapina, na Catalunha, este é um dos primeiros registos de *Cryptosporidium* e *Giardia* em aves selvagens na Península Ibérica. As prevalências encontradas estão relativamente abaixo do que já foi observado em vários estudos europeus. Em Espanha, Reboredo-Fernández *et al.* (2015) obtiveram prevalências de 8,3% e 2,1% para *Cryptosporidium* e *Giardia*, respetivamente, em aves selvagens. Ainda em Espanha, mas num trabalho direcionado para aves que habitavam um jardim ornitológico, foi observado 0,8% de amostras positivas para *Cryptosporidium* (Cordón *et al.*, 2009), a única exceção que demonstrou uma prevalência inferior à observada no presente trabalho. Papini *et al.* (2012), através de técnicas moleculares, nomeadamente PCR, identificaram *Cryptosporidium* e *Giardia* com prevalências de 4% e 5,3%, respetivamente, em aves Psittaciformes. Esta foi a primeira ocorrência de *Cryptosporidium* e de *Giardia duodenalis* em aves em Itália. Na Grécia, Papazahariadou *et al.* (2008), através da observação de esfregaços fecais executados durante necrópsias, confirmaram a presença de *Cryptosporidium* e *Giardia* em 13,4% e 5,9% das amostras, respetivamente. *Cryptosporidium* foi o protozoário mais comum no último estudo e foi mais frequente nas famílias Anatidae e Accipitridae. No trabalho efetuado por Reboredo-Fernández *et al.* (2015), também foi identificado *Giardia* num espécime de *Streptopelia turtur*, correspondendo a 50% dos indivíduos; é um valor menor do que o encontrado no presente estudo (100%), mas este valor tem muito pouca expressividade dado que só foi analisado um indivíduo desta espécie. Foi observado, igualmente, *Cryptosporidium* em *Athene noctua*, sendo que foi a primeira descrição do protozoário nesta espécie Strigiforme. A prevalência para esta

espécie foi de 25%, o que é superior à verificada no presente trabalho. Já tinha sido identificado *Cryptosporidium* (*C. baileyi*) também em rapinas, num surto ocorrido na Catalunha, em 16 indivíduos pertencentes à espécie *Otus scops* e com presença de sinais clínicos de criptosporidiose (Molina-López *et al.*, 2010). A deteção de *Cryptosporidium* em rapinas, uma vez que estas estão no topo da cadeia alimentar, é um indicativo de que o parasita está presente no meio ambiente; a maioria alimenta-se de pequenos mamíferos e alguns alimentam-se de pássaros, peixes e répteis, os quais poderão estar infetados (Reboredo-Fernández *et al.*, 2015). Na Polónia, num estudo concretizado por Perec-Matysiak, Buńkowska-Gawlik, Zaleśny e Hildebrand (2015), revelaram-se prevalências de *Cryptosporidium* e *Giardia* em pequenos roedores, que atuavam como reservatórios, contribuindo para a contaminação das águas, comida e solo. Este estudo relevou, também, a mais alta prevalência de infeção em roedores que habitam áreas semiaquáticas. A zona de origem de *Athene noctua*, e o próprio RIAS onde ocorreu a sua recuperação, constituem esse tipo de ambientes; sendo que os pequenos mamíferos são constituintes da dieta do mocho-galego, a sua ingestão poderia ser uma explicação apropriada à infeção por *Cryptosporidium*. A espécie columbiforme, *Streptopelia turtur*, possui uma dieta à base de sementes (Browne & Aebischer, 2003), o que não poderá desta forma justificar a sua infeção por *Giardia*. No entanto, poderá ter-se dado a transmissão através de água, solo ou comida contaminada, uma vez que estas são grandes fontes de infeção (Papini *et al.*, 2012). Durante o tempo de recuperação no centro, as aves encontram-se confinadas e o contacto com um grande número de aves é frequente, para além da contaminação de comida e água ser facilitada pelo condicionamento; desta forma, a transmissão pode ter-se dado durante a sua recuperação em cativeiro.

Duas das seis espécies de *Giardia* são reconhecidas em aves: *G. ardeae* e *G. psittaci*. Três espécies de *Cryptosporidium* têm sido reportados nestes hospedeiros: *C. galli*, *C. baileyi* e *C. meleagridis* (Reboredo-Fernández *et al.*, 2015).

As baixas prevalências encontradas neste estudo podem dever-se ao facto de, para além deste método não ser tão sensível e específico quanto os métodos moleculares, as amostras terem sido refrigeradas durante um longo período de tempo antes de se proceder à coloração pelo método de Ziehl-Neelsen, pela falta de meios apropriados para o fazer no imediato.

Para finalizar o estudo referente à execução de esfregaços fecais para observação destes protozoários, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nos diferentes parâmetros analisados. Não há um valor expressivo de amostras positivas que permita discutir os resultados dos diferentes critérios estudados.

No total das aves analisadas para hemoprotozoários, 22,6% das amostras encontravam-se parasitadas por, no mínimo, um género parasitário. As amostras positivas pertenciam somente

a aves marinhas e rapinas, sendo que só houve um resultado positivo entre as marinhas. Isto poderá dever-se ao facto da maioria das aves amostradas pertencer a estes dois grupos, sendo que nos restantes surgiram muito poucos exemplares. As rapinas, sendo o grupo com maior prevalência parasitária, destacou-se dos restantes grupos com 33,3% de parasitismo. Entre as rapinas, os Strigiformes mostraram-se relativamente mais parasitados (55,6%) do que os Accipitriformes (20%), sendo que estes últimos foram representados por 5 indivíduos de uma única espécie – *Buteo buteo* (águia-d’asa-redonda). Numa análise através dos estudos praticados em Portugal, até à data, podemos afirmar que o valor geral de parasitismo não se distancia muito do que tem vindo a ser observado (Santos, Pereira, Melo & Madeira de Carvalho, 2008; Viana, 2010; Baptista, Pires, Matos, Melo & Madeira de Carvalho, 2013; Tomás, Rebelo & Pereira da Fonseca, 2014), ocorrendo numa prevalência ligeiramente inferior à maioria dos trabalhos, com exceção de Santos *et al.* (2008) que relataram uma percentagem inferior de aves infetadas (20,4%). No entanto, a prevalência para hemoparasitas em Strigiformes, no estudo referido acima, é superior à encontrada no presente trabalho (63,6%). À semelhança da investigação a nível nacional (Martinho & Melo, 2006; Santos *et al.*, 2008; Viana, 2010; Baptista *et al.*, 2013; Tomás *et al.*, 2014), e refutando Krone *et al.* (2008) que afirmou ser o género *Haemoproteus* o mais frequente entre os hemoparasitas de aves, *Leucocytozoon* foi o protozoário hemático mais prevalente nesta pesquisa (15,1%), seguindo-se *Haemoproteus* (13,2%) e, por fim, *Plasmodium* que surgiu numa prevalência de 3,8%. Este último dado veio corroborar o que foi afirmado por Krone *et al.* (2001), ou seja, que as prevalências de *Plasmodium* são geralmente baixas.

A prevalência superior para hemosporídeos em Strigiformes segue a tendência geral dos trabalhos realizados nesta temática. Nos diferentes estudos, foi constatado que esta maior prevalência em Strigiformes poderá resultar da relação hospedeiro-vetor. Uma vez que *Leucocytozoon* foi o parasita mais prevalente entre as rapinas noturnas, e o vetor deste parasita pertence à família Simuliidae (que apresenta maior atividade durante o dia), a altura de menor atividade do hospedeiro (diurna) corresponde à altura de maior atividade do vetor, o que se traduz numa maior propensão à transmissão do parasita (Martínez de la Puente, 2010; Viana, 2010; Baptista *et al.*, 2013; Tomás *et al.*, 2014). Para reforçar esta hipótese, os locais de nidificação ocupados pelas rapinas noturnas também constituem meios ótimos para o desenvolvimento de vetores simulídeos (Santos *et al.*, 2008). Ainda que de modo diferente, a mesma explicação pode ser dada, no presente estudo, à ausência de parasitismo por *Leucocytozoon* em Accipitriformes e à sua infeção por *Haemoproteus*. Apesar de *Buteo buteo* utilizar o habitat preferencial para simulídeos (Viana, 2010), a sua maior atividade, ao contrário dos Strigiformes, ocorre durante o dia. Portanto, os vetores de *Leucocytozoon* são activos

durante o dia, o que não corresponde à altura de menor atividade da espécie Accipitriforme. No entanto, os vetores de *Haemoproteus*, nomeadamente da família Ceratopogonidae, têm atividade crepuscular e noturna (Fecchio, 2011), o que coincide com a altura em que espécies diurnas se encontram mais inativas e a transmissão do parasita é facilitada.

As espécies de rapinas que se apresentaram mais parasitadas foram *Asio flammeus* e *Bubo bubo*, com 100% de amostras positivas; no entanto é de notar o baixo número de indivíduos analisados, o que torna a alta prevalência pouco expressiva. Martinho e Melo (2006), Santos *et al.* (2008) também obtiveram uma prevalência mais elevada em *Asio flammeus* e *Bubo bubo*, assim como Viana (2010) em *Bubo bubo*. Apesar das prevalências mais elevadas em determinadas espécies, e a tendência para o hemoparasitismo em Strigiformes ser generalizada, há alguma variabilidade nos diferentes estudos portugueses (já assinalados), inclusive o presente trabalho, e em estudos internacionais, sendo que alguns abarcam diferentes ordens de aves (Krone *et al.*, 2001; Hauptmanová, Benedikt & Literák, 2006; Krone *et al.*, 2008; Cordón *et al.*, 2009; Quillfeldt, Arriero, Martínez, Masello & Merino, 2011; Dunn, Goodman, Benton & Hamer, 2014). Esta variabilidade poderá ser explicada por diversos factores: i) diferentes regiões geográficas, estações do ano e suscetibilidade dos hospedeiros (Krone *et al.*, 2001); ii) especificidade de espécies de parasitas para hospedeiros específicos; iii) diferenças nas populações de vetores e diferentes exposições dos hospedeiros aos vetores (Hauptmanová *et al.*, 2006; Ventim, 2012); iv) traços comportamentais e morfologia dos hospedeiros que promovem e facilitam a transmissão vetor-hospedeiro (Dunn *et al.*, 2014). Como esclarecido por Krone *et al.* (2008), quatro espécies de *Haemoproteus* têm sido reconhecidas em Strigiformes, cinco espécies de *Plasmodium* foram listadas por Valkiūnas nesta ordem e somente uma espécie de *Leucocytozoon* é aceite (*L. danilewskyi*).

Com relação às aves marinhas, a prevalência assinalada foi inferior às rapinas, 6,7%, o correspondente a um espécime *Larus michahellis* (gaivota-de-patas-amarelas) parasitado. O mesmo indivíduo encontrou-se positivo para dois géneros parasitários: *Plasmodium* e *Haemoproteus*. Martinho e Melo (2006) assinalaram uma maior prevalência na família Laridae (*Larus cachinnans*, gaivota-do-cáspio), 50%, mas sendo este valor pouco expressivo, uma vez que só foram analisadas duas aves desta espécie; o indivíduo, tal como no presente estudo, encontrava-se parasitado por *Plasmodium*. Ainda em território nacional, Tomás (2014) obteve uma prevalência de 6,98% para hemosporídeos em Charadriiformes. As baixas prevalências de hemoprotozoários encontradas em habitat marinho são comuns, sendo que a prevalência geral de hematozoários em aves marinhas é de 8,7%, de acordo com uma revisão efetuada por Quillfeldt *et al.* (2011), e os parasitas mais comumente encontrados são *Haemoproteus* (mais frequente em gaivotas) e *Plasmodium*, o que corrobora os resultados da presente pesquisa.

Algumas hipóteses têm vindo a ser propostas para explicar a ausência ou baixas prevalências de hemoparasitas em ambiente marinho, nomeadamente: i) ausência ou escassez de vetores neste habitat; ii) associação hospedeiro-vetor altamente específica; iii) competências imunológicas do hospedeiro, prevenindo infeções parasitárias; iv) exclusão de vetores de hemoprotozoários por competição com ectoparasitas. No seguimento da revisão levada a cabo por Quillfeldt *et al.* (2011), as prevalências de infeções múltiplas são normalmente muito baixas, sendo que somente cinco espécies de aves foram reportadas com infeção por mais de um género parasitário, entre elas a espécie *Larus cachinnas* (gaivota-do-cáspio), pertencente à família Laridae, o que vai ao encontro aos resultados encontrados no presente trabalho.

Não ocorreram associações estatisticamente significativas entre o grupo de aves, idade ou causa de ingresso. As aves adultas surgiram mais parasitadas, o que se pode dever, de acordo com Tomé, Santos, Cardia, Ferrand e Korpimäki (2005), à ausência de vetores próprios durante a época de cria, ou à exposição prolongada aos vetores durante a vida das aves adultas. A causa de ingresso mais prevalente entre as amostras positivas corresponde a aves ingressadas por trauma; o trauma, sendo uma causa de *stress*, pode resultar numa diminuição do sistema imunológico e, como elucidam Dunn *et al.* (2014), a função imunitária diminuída está associada com o aumento da prevalência parasitária. Ocorreram diferenças significativas no verão, onde foram observados mais indivíduos positivos do que seria expectável. Dunn *et al.* (2014) explicam que, apesar de ter verificado que poderão ocorrer infeções durante o inverno (devido ao stress ambiental causado pela temperatura, ao comportamento de *flocking* e às necessidades acrescidas de fontes alimentares escassas), a prevalência dos três géneros parasitários tendem a aumentar no início da época reprodutiva como consequência do aumento de hormonas, principalmente corticosterona, produzidas nessa altura. Ocorreram diferenças significativas com relação ao estatuto fenológico e, ao contrário do que seria esperado, ocorreram menos parasitas nas aves migradoras do que em residentes. A explicação para este facto pode basear-se nos fatores que já foram enunciados relativamente às diferenças de parasitismo encontradas (especificidade parasita-hospedeiro, populações de vetores em determinados habitats e consoante a região, hábitos comportamentais do hospedeiro, entre outros). Relativamente ao habitat também foram encontradas diferenças estatisticamente significativas, sendo que as aves aquáticas apresentaram significativamente menos parasitismo. Este resultado já seria teoricamente expectável, uma vez que, tal como explanado acima, a ocorrência de parasitas sanguíneos não é comum entre as aves marinhas e só foram analisadas duas aves aquáticas, que se mostraram negativas (uma vez que estes dois grupos são os representantes do habitat aquático).

V. Conclusões

Os resultados neste trabalho são de natureza muito diversa, principalmente porque se realizaram metodologias diferentes e foi utilizada uma amostra bastante heterogênea, envolvendo 44 espécies de aves.

Na globalidade do estudo, houve uma prevalência de parasitismo de 22%. As análises coprológicas revelaram 24% de amostras parasitadas, a pesquisa de *Cryptosporidium* e *Giardia* assinalou 3,8% de parasitismo nas aves sujeitas a análise e os hemoprotozoários surgiram com uma prevalência de 22,6% na sua população amostral. As rapinas, aliado ao facto de terem sido as melhores representadas no estudo, foram as que apresentaram um maior número de amostras parasitadas (58,6%) na totalidade dos resultados positivos. No entanto, apesar da população de estepárias ser baixa, foi a que revelou maior prevalência parasitária (44,4%). Neste seguimento, as espécies mais infectadas foram *Athene noctua* (rapina), que mostrou a maior riqueza parasitária e evidenciou parasitismo nos três métodos distintos, e *Falco naumanni* (estepária). Relativamente aos vários parâmetros analisados podemos constatar que: a) as crias representaram a maior fonte de parasitas (grupo etário); b) as aves terrestres (habitat) e residentes (estatuto fenológico) demonstraram maior parasitismo; c) a maioria das aves positivas tinha sofrido algum tipo de trauma (causa de ingresso) e d) o verão foi a época em que a maioria dos parasitas foram assinalados (clima).

No método coprológico, os capilarídeos (*Capillaria* sp.) foram os parasitas mais prevalentes (47,60%), seguidos pelas coccídias (38,10%), cestodes (9,52%) e, por fim, pelos ascarídeos (*Ascaridida*, 4,76%). De entre as espécies parasitadas, as rapinas foram representadas pelas espécies *Athene noctua* (capilarídeos e coccídias) e *Tyto alba* (capilarídeos); as estepárias pela espécie *Falco naumanni* (coccídias); as aquáticas pelas espécies *Anas platyrhynchos* (capilarídeos e ascarídeos) e *Gallinula chloropus* (capilarídeos); as marinhas pela espécie *Larus fuscus* (capilarídeos) e os Passeriformes pela espécie *Turdus merula* (capilarídeos e cestodes). A pesquisa de *Cryptosporidium* e *Giardia*, através da observação de esfregaços fecais, evidenciou a presença destes protozoários intestinais em dois indivíduos: *Athene noctua* como hospedeiro de *Cryptosporidium* e *Streptopelia turtur* como hospedeiro de *Giardia*, correspondendo cada amostra a uma prevalência parasitária de 1,9%; o que se encontra relativamente abaixo do que já foi verificado em vários estudos europeus.

A investigação de hematozoários, pelo exame de esfregaços sanguíneos, revelou a presença de *Leucocytozoon* como sendo a mais prevalente (15,10%), seguindo-se *Haemoproteus* (13,20%) e *Plasmodium* (3,8%). *Asio Flammeus* e *Bubo bubo* foram as espécies com maior prevalência (100%) sendo, no entanto, uma alta prevalência com pouca expressividade dado o baixo número

de indivíduos analisados. *Athene noctua* (45,5%) foi a espécie mais frequente entre as aves positivas e a que apresentou os três géneros parasitários. As aves marinhas também revelaram parasitismo, o correspondente a uma amostra pertencente à espécie *Larus michahellis* (16,7%). É conveniente salientar alguns aspetos contidos neste trabalho que poderão acrescentar informação relevante:

- a) Primeiro registo parasitológico de *Falco naumanni* em Portugal;
- b) Primeiro estudo em Portugal a relatar prevalências de parasitas intestinais nas espécies *Gallinula chloropus* e *Anas platyrhynchos*;
- c) Primeira referência nacional de parasitismo por *Capillaria* sp. em *Larus fuscus*;
- d) Primeiro registo formal de parasitismo por helmintes na espécie *Turdus merula* em territórios portugueses;
- e) Primeiro relato de *Cryptosporidium* e *Giardia* em aves selvagens no nosso país e um dos primeiros na Península Ibérica.¹

VI. Considerações e perspectivas futuras

Podemos considerar que este estudo veio, de um modo geral, contribuir para alargar o horizonte do conhecimento da fauna parasitária nas aves selvagens de Portugal.

Estes trabalhos são importantes principalmente porque poderão conter informação relevante e ser ponto de partida para estudos mais complexos no sentido da conservação das espécies, nomeadamente acerca do impacto em populações selvagens e no ambiente em geral. Como explica Wobser (2008), para se compreender o efeito de uma espécie parasitária numa população de hospedeiros, é necessário perceber o efeito do parasita num indivíduo, a prevalência e intensidade da infeção parasitária dentro da população e o contexto onde a interação ocorre, sendo que deverá incluir as mudanças antropogénicas. Somente uma minoria de casos de parasitismo está claramente associado ao comprometimento funcional do hospedeiro, o que poderá ser considerado de doença. No entanto, apesar da maioria dos estudos se focar nos efeitos dos parasitas na mortalidade, os efeitos subliminares de infeções crónicas, tal como a redução da fertilidade, são mais suscetíveis de causar efeito ao nível das populações. Estas são, portanto, premissas importantes no estudo do impacto em populações. Investigações que englobem animais selvagens com estatutos de conservação que se incluem nas categorias de risco (CR, EN e VU), são essencialmente importantes. O presente trabalho facultou informação pertinente acerca de uma espécie de estatuto VU em Portugal (e mundial), *Falco naumanni*, incluída num projeto de conservação e proteção ambiental – *Projecto LIFE*

¹ Estes dados estão de acordo com a pesquisa efectuada e a bibliografia disponível.

Estepárias. O facto de vários indivíduos da espécie se encontrarem parasitados e com sinais clínicos correspondentes à parasitose que culminaram em morte natural ou por eutanásia, levamos a refletir sobre a importância de estudos como este, e obviamente outros mais complexos, para o conhecimento da dinâmica e impacto dos parasitas em populações silvestres particularmente ameaçadas. Inclusivamente, o facto de ocorrer parasitismo por coccídias nesta espécie, poderá sugerir uma hipotética mudança de hábitos alimentares, provocada pela alteração de habitat e consequente disponibilidade alimentar; e conduz-nos a suspeitar da real ameaça das mudanças antropogénicas na dinâmica parasita-hospedeiro e na conservação das espécies.

A presença de *Cryptosporidium* e *Giardia*, ainda que em baixa prevalência, veio alertar para o papel das aves selvagens como potenciais disseminadoras de agentes patogénicos, quer por serem agentes zoonóticos e constituírem um risco para a saúde pública (para a população em geral e em especial para profissionais que trabalham com aves selvagens), como pela sua disseminação poder contaminar espaços de produção animal ou comuns a outras aves silvestres, contribuindo potencialmente para perdas económicas significativas e afetando a sanidade animal num sentido mais global.

Posteriormente, aquando da realização de estudos idênticos e por forma a tornar os resultados mais consistentes e o estudo mais substancial, propõe-se: i) restringir o estudo a um grupo de aves (por exemplo aves de uma espécie ou de um habitat específico) ou ter uma amostra considerável para cada espécie de ave analisada e/ou grupo; ii) se possível, analisar cada indivíduo para os diferentes grupos parasitários; iii) nas análises coprológicas, de modo a tornar o método mais viável, analisar mais que uma amostra fecal em dias diferentes e alturas do dia distintas, se for exequível, e complementar com o método de sedimentação; iv) na presença de coccídias nas amostras fecais, proceder aos métodos de esporulação para permitir uma identificação mais precisa; v) a par das técnicas coprológicas, realizar necrópsias para a pesquisa e identificação de helmintos intestinais; vi) realizar análises moleculares para identificação e caracterização das espécies de *Cryptosporidium* sp. e *Giardia* sp.; vii) estender a pesquisa durante um ano consecutivo de forma a abranger todas as estações e estudar os efeitos climáticos no parasitismo com maior precisão; viii) proceder a provas de deteção de parasitas aquando da libertação, como método de avaliação da eficácia de tratamentos efetuados e de verificação de situações em que a transmissão tenha ocorrido durante o tempo de recuperação no Centro.

É fundamental que os profissionais que trabalham com animais selvagens em cativeiro (como centros de recuperação ou jardins zoológicos) adquiram o conhecimento necessário acerca da transmissão, patogenicidade, tratamento e controlo de endoparasitas em aves, bem como a

consciencialização sobre riscos de saúde pública associados à manipulação e contacto com aves parasitadas por agentes zoonóticos como *Cryptosporidium* e *Giardia*.

É essencial que sejam replicados estudos semelhantes a nível nacional. Para facilitar uma análise mais ampla e haja uma comparação mais fidedigna, os vários centros de recuperação devem ser encorajados a usar códigos e categorias comuns. A padronização aprimorada dos registos e o rastreamento da saúde com a realização de testes auxiliares de diagnóstico, como provas de deteção de parasitas, ou exames *post-mortem* regulares, poderá melhorar significativamente a qualidade de reabilitação da vida selvagem. É recomendável executar análises estatísticas similares periodicamente e partilhar informação não só com outros centros de recuperação, mas também com instituições governamentais e institutos de conservação (Trocini *et al.*, 2008).

“Sustainability involves the health not only of individual humans, but also of ecosystems and other species” (Fowler, 2005).

Bibliografia

Aguirre, A. A. (2009). Essential veterinary education in zoological and wildlife medicine: a global perspective. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 28(2), 605-610.

Alcazar, R. (2009). *O Projecto LIFE Estepárias permitirá promover uma gestão cinegética em prol das aves estepárias*. Revista Turcaça, 50-54. Acedido a Mai. 3, 2014, disponível em [http://www.lifeesteparias.lpn.pt/Documentacao/Artigos-na-
Imprensa/Files.aspx?tabid=2392&code=pt](http://www.lifeesteparias.lpn.pt/Documentacao/Artigos-na-Imprensa/Files.aspx?tabid=2392&code=pt)

Alcazar, R., Barbosa, L. & Estanque B. (2012). *Juntos a proteger as aves estepárias*. Castro Verde: Liga para a Proteção da Natureza [LPN]. Acedido a Mai. 3, 2014, disponível em [http://www.lifeesteparias.lpn.pt/Backoffice/UserFiles/GOBIUS_LIFE%20Esteparias_Brochur
a_web_PT_reduzido.pdf](http://www.lifeesteparias.lpn.pt/Backoffice/UserFiles/GOBIUS_LIFE%20Esteparias_Brochura_web_PT_reduzido.pdf)

Alcazar, R., Guilherme, J., & Estanque, B. (2011). *Conservar as aves estepárias continua a ser uma prioridade*. Revista Liberne. Acedido a Mai. 3, 2014, disponível em [http://www.lifeesteparias.lpn.pt/Documentacao/Artigos-na-
Imprensa/Files.aspx?tabid=2392&code=pt](http://www.lifeesteparias.lpn.pt/Documentacao/Artigos-na-Imprensa/Files.aspx?tabid=2392&code=pt)

Aldeyarbi, H. M., & Karanis, P. (2015). The ultra-structural similarities between cryptosporidium parvum and the gregarines. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 63(1), 79-85. doi: 10.1111/jeu.12250.

Aldeyarbi, H. M., & Karanis, P. (2016). The fine structure of sexual stage development and sporogony of *Cryptosporidium parvum* in cell-free culture. *Parasitology*, 143, 749–761. doi:10.1017/S0031182016000275.

Alivizatos, H., Goutner, V., & Zogaris, S. (2005). Contribution to the study of the diet of four owl species (Aves, Strigiformes) from mainland and island areas of Greece. *Belgian Journal of Zoology*, 135(2), 109-118.

Álvarez, M. F., Cordeiro, J. A., Leiro, J. M., & Sanmartín, M. L. (2006). Influence of host age and sex on the helminth fauna of the yellow-legged gull (*Larus michahellis*) in Galicia (northwestern Spain). *Journal of Parasitology*, 92(3), 454-458.

Amo, L., Fargallo, J. A., Martínez-Padilla, J., Millán, J., López, P., & Martín, J. (2005). Prevalence and intensity of blood and intestinal parasites in a field population of a Mediterranean lizard, *Lacerta lepida*. *Parasitology Research*, 96, 413–417. doi: 10.1007/s00436-005-1355-1.

Antunes, A. F. N. (2015). *Pesquisa de helmintes gastrointestinais em quatro espécies de aves de rapina na zona centro de Portugal: Buteo buteo, Falco tinnunculus, Tyto alba e Athene noctua*. Dissertação de Mestrado em Sanidade Animal. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa.

Ashraf, S., Javid, A., Ashraf, M., Akram, M., Altaf, M., Irfan, M., Azmat, H., Jabeen, G., & Ali, Z. (2015). Studies on parasitic prevalence in ring necked pheasants (*Phasianus colchicus*) in captivity. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 25(3), 359-364.

- Atkinson, C. T. (2008a). Avian malaria. In C. T. Atkinson, N. J. Thomas & D. B. Hunter (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (pp. 35-53). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Atkinson, C. T. (2008b). *Haemoproteus*. In C. T. Atkinson, N. J. Thomas & D. B. Hunter (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (pp. 13-34). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Bandelj, P., Blagus, R., Trilar, T., Vengust, M., & Rataj, A. V. (2015). Influence of phylogeny, migration and type of diet on the presence of intestinal parasites in the faeces of European passerine birds (Passeriformes). *Wildlife Biology*, 21(4), 227-233.
- Baptista, A. C., Pires, B., Matos, R., Melo, P., & Madeira de Carvalho, L. (2013). Blood parasites in birds of prey and the contribution of wild animals rehabilitation centres. In *Papers in Conference Proceedings, 3º Congresso Internacional de Enfermagem Veterinária*. Elvas, 25-25 Outubro de 2013.
- Berto, B. P., Cardozo, S. V., Gomes, L., Pereira da Fonseca, I., & Lopes, C. W. G. (2014). Sarcocystis sporocysts from the common barn-owl *Tyto alba* in Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 20(1-2), 61-64.
- Berto, B. P., McIntosh, D., & Lopes, C. W. G. (2014). Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 23(1), 1-15.
- Borgsteede, F. H. M., Okulewicz, A., Zoun, P. E. F., & Okulewicz, J. (2003). The helminth fauna of birds of prey (Accipitriformes, Falconiformes and Strigiformes) in the Netherlands. *Acta Parasitologica*, 48(3), 200-207.
- Bounas, A., & Sotiropoulos, K. (2017). Change of feeding strategy prior to migration: a comparative diet analysis in the lesser kestrel (*Falco naumanni*). *Avian Biology Research*, 10(1), 27-35.
- Bowman, D. D. (Ed.) (2009). Protozoans. In *Georgis' Parasitology for Veterinarians* (9th Ed., pp. 84-114). Philadelphia, USA: Elsevier Saunders.
- Bowman, D.D. (Ed.). (2014a). Helminthes. In *Georgis' Parasitology for Veterinarians* (10th Ed., pp. 122-241). Philadelphia, USA: Elsevier Saunders.
- Bowman, D. D. (Ed.). (2014b). Protista. In *Georgis' Parasitology for Veterinarians* (10th Ed., pp. 87-121). Philadelphia, USA: Elsevier Saunders.
- Brahman, L. K., & Chandra, R. (2016). Biological control of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae) larvae. *Journal of Biological Control*, 30(1), 25-28.
- British Trust for Ornithology [BTO]. (2017). *Rallidae: Rails*. Acedido a Set. 5, 2017, disponível em <https://www.bto.org/about-birds/birdfacts/bird-families/rails>
- Browne, S. J., & Aebischer, N. J. (2003). Habitat use, foraging ecology and diet of Turtle Doves *Streptopelia turtur* in Britain. *International Journal of Avian Science*, 145(4), 572-582.

Caetano, P. (2001, Maio 7). As cegonhas das escarpas. *Público*. Acedido a Nov. 20, 2017, disponível em <https://www.publico.pt/2001/05/07/jornal/as-cegonhas-das-escarpas-157492>

Cano, L., Lucio, A., Bailo, B., Cardona, G. A., Muadica, A. S. O, Lobo, L., & Carmena, L. (2016). Identification and genotyping of *Giardia* spp. and *Cryptosporidium* spp. isolates in aquatic birds in the Salburua wetlands, Álava, northern Spain. *Veterinary Parasitology*, 221, 144-148. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.03.026.

Cardozo, S. V., Berto, B. P., Caetano, I., Maniero, V. C., Pereira da Fonseca, I., & Lopes, C. W. G. (2016). *Caryospora peneireiroi* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) in the common kestrel, *Falco tinnunculus* (Falconiformes: Falconidae), in mainland Portugal. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 25(2), 202-206. doi: 10.1590/S1984-29612016030.

Cardozo, S. V., Berto, B. P., Caetano, I., Maniero, V. C., Santos, M., Pereira da Fonseca, I., & Lopes, C. W. G. (2017). *Avispora mochogalegoi* n. sp. (Apicomplexa: Sarcocystidae) in the little owl, *Athene noctua* (Strigiformes: Strigidae), in mainland Portugal. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 26(3), 348-351. doi: 10.1590/S1984-29612017053.

Cardozo, S. V., Berto, B. P., Pereira da Fonseca, I., Tomás, A., Thode, F. R. P. B., & Lopes, C. W. G. (2015). Characterisation of *Isospora lusitanensis* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Eurasian blackbird *Turdus merula* Linnaeus (Passeriformes: Turdidae) in mainland Portugal. *Systematic Parasitology*, 92(2), 171-179. doi: 10.1007/s11230-015-9590-z.

Carrega, S. P. O. (2016). *Parasitismo gastrointestinal em aves de rapina num centro de recuperação de animais silvestres*. Dissertação de Mestrado em Sanidade Animal. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa.

Cavalier-Smith, T. (2003). The excavate protozoan phyla Metamonada Grassé emend. (Anaeromonadea, Parabasalia, *Carpodimonas*, Eopharyngia) and Loukozoa emend. (Jakobea, *Malawimonas*): their evolutionary affinities and new higher taxa. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53, 1741–1758. doi: 10.1099/ijs.0.02548-0.

Cavalier-Smith, T. (2014). Gregarine site-heterogeneous 18S rDNA trees, revision of gregarine higher classification, and the evolutionary diversification of Sporozoa. *European Journal of Protistology*, 50(5), 472-495.

Cawthorn, R. J. (1993). Pathology and microbiology: Cyst-forming coccidian of raptors: Significant pathogens or not? In P. T. Redig, J. E. Cooper, J. D. Remple & D. B. Hunter (Eds.), *Raptor Biomedicine* (pp. 14-20). Minneapolis, Minnesota: University of Minnesota Press. Acedido a Mai. 23, 2017, disponível em https://books.google.pt/books?hl=pt-PT&lr=&id=kDKtrU2hWkgC&oi=fnd&pg=PA14&dq=falco+naumanni+intestinal+protozoa&ots=WBOZu51yWE&sig=ssjimzZwiWrbl2waAp1nnDMQyDE&redir_esc=y#v=onepage&q=falco%20naumanni%20intestinal%20protozoa&f=false

Centro de Recuperação e Investigação de Animais Selvagens da Ria Formosa [RIAS] (2011). *Relatório de Actividades 2011*. Olhão.

Chitty, J. (Ed.). (2008). Basic techniques. In J. Chitty & M. Lierz (Eds.), *Manual of Raptors, Pigeons and Passerine Birds* (pp. 62-72). Quedgeley, UK: BSAVA.

- Clark, P., Boardman, W. S. J., & Raidal, R. S. (2009). Hemoparasites of birds. *In Atlas of Clinical Avian Hematology* (pp. 125-138). Oxford: Wiley-Blackwell.
- Coon, C. A. C., Garcia-Longoria, L., Martin, L. B., Magallanes, S., Lope, S., & Marzal, A. (2016). Malaria infection negatively affects feather growth rate in the house sparrow *Passer domesticus*. *Journal of Avian Biology*, 47, 001–009. doi: 10.1111/jav.00942.
- Cooper, J. E. (Ed.). (2002). Methods of investigation and treatment. *In Birds of Prey: Health and Disease* (3rd Ed., pp. 28-70). Oxford, UK: Blackwell Science.
- Cordón, G. P., Prados, A. H., Romero, D., Moreno, M. S., Pontes, A., Osuna, A., & Rosales, M. J. (2009). Intestinal and haematic parasitism in the birds of the Almuñecar (Granada, Spain) ornithological garden. *Veterinary Parasitology*, 165, 361–366. doi:10.1016/j.vetpar.2009.07.027.
- Costa, L. T., & Guedes, R. S. (1994). *Contagens de anatídeos invernantes em Portugal*. Estudos de Biologia e Conservação da Natureza, 14. Lisboa: Instituto da Conservação da Natureza [ICN].
- Cross, J. H. (1992). Intestinal capillariasis. *Clinical Microbiology Reviews*, 5(2), 120-129.
- Cruz, C. E. F., Fredo, G., Casagrande, R., Oliveira, L., Rolim, V., Marques, S., Pavarini, S., & Driemeier, D. (2015). *Eucoleus contortus* parasitism in captive-bred valley quail *Callipepla californica* (Shaw, 1798): disease and control. *Der Zoologische Garten*, 85, 152-159.
- Cunha, M. J. R., Cury, M. C., & Santín, M. (2016). Molecular identification of *Enterocytozoon bieneusi*, *Cryptosporidium*, and *Giardia* in brazilian captive birds. *Parasitology Research*, 116(2), 487–493.
- Dunn, J. C., Goodman, S. J., Benton, T. G., & Hamer, K. C. (2014). Active blood parasite infection is not limited to the breeding season in a declining farmland bird. *Journal of Parasitology*, 100(3), 260–266. doi: 10.1645/13-256.1.
- Duszynski, D. W., Couch, L., & Upton, S. J. (1999). The *Eimeria* and *Isospora* of Falconiformes (caracara, eagles, falcons, goshawks, harriers, hawks, kestrels, kites, osprey, vultures). Acedido a Mai. 23, 2017, disponível em <http://www.k-state.edu/parasitology/worldcoccidia/FALCONIFORMES>
- Edwards, S. V., & Harshman, J. (2013). *Passeriformes: Perching birds, passerine birds*. Tree of Life Web Project. Acedido a Mai. 4, 2014, disponível em <http://tolweb.org/Passeriformes/15868/2013.02.06>
- Fayer, R., & Ungar, B. L. P. (1986). *Cryptosporidium spp.* and cryptosporidiosis. *Microbiological Reviews*, 50(4), 458-483.
- Fecchio, A. (2011). *Prevalência, diversidade e estrutura da comunidade de hemoparasitos (Haemoproteus e Plasmodium) em aves do Cerrado do Brasil Central*. Dissertação de Doutorado em Biologia Animal. Brasília: Instituto de Ciência Biológicas – Universidade de Brasília.

- Fedynich, A. M. (2008). *Heterakis* and *Ascaridia*. In C. T. Atkinson, N. J. Thomas & D. B. Hunter (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (pp. 388-412). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Ferrer, D., Molina, R., Castellà, J., & Kinsella, J. M. (2004). Parasitic helminths in the digestive tract of six species of owls (Strigiformes) in Spain. *The Veterinary Journal*, 167(2), 181-185.
- Forbes, N. A. (2008). Raptors: parasitic disease. In J. Chitty & M. Lierz (Eds.), *Manual of Raptors, Pigeons and Passerine Birds* (pp. 202-211). Quedgeley, UK: BSAVA.
- Foreyt, W. J. (1997). Parasites of birds. In *Veterinary Parasitology Reference Manual* (4th Ed., pp. 140-153). Washington: College of Veterinary Medicine.
- Forrester, D. J., & Greiner, E. C. (2008). Leucocytozoonosis. In C. T. Atkinson, N. J. Thomas & D. B. Hunter (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (pp. 54-107). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Fowler, C. W. (2005). Sustainability, health, and the human population. *EcoHealth*, 2(1), 58-69. doi: 10.1007/s10393-004-0078-6.
- Frederik, P.C. (2001). Wading birds in the marine environment. In E. A. Schreiber & J. Burger (Eds.), *Biology of Marine Birds*. (pp. 617-656). Boca Raton, Florida: CRC Press LLC.
- Friend M., & Franson, J. C. (Eds.). (1999a). Hemosporidiosis. In *Field Manual of Wildlife Diseases: General Field Procedures and Diseases of Birds. Technology Report 1999-001*. (pp. 193-200). Washington, D.C.: USGS National Wildlife Health Center.
- Friend M., & Franson, J. C. (Eds.). (1999b). Intestinal coccidiosis. In *Field Manual of Wildlife Diseases: General Field Procedures and Diseases of Birds. Information and Technology Report 1999-00*. (pp. 207-214). Washington, D.C.: USGS National Wildlife Health Center.
- Friend M., & Franson, J. C. (Eds.). (1999c). Introduction to parasitic diseases. In *Field Manual of Wildlife Diseases: General Field Procedures and Diseases of Birds. Technology Report 1999-001*. (pp. 188-192). Washington, D.C.: USGS National Wildlife Health Center.
- Fundación Cluster Mar Menor [FCMM]. (2007). *Guía de aves acuáticas del mar menor* (3^a Ed.). Región de Murcia: Consejería de Desarrollo Sostenible y Ordenación del Territorio.
- Furness, R.W., & Monaghan, P. (1987). *Seabird ecology*. New York, USA: Blackie.
- García-Montijano, M., Tébar, A. M., Barreiros, B., Rodríguez, P., Alonso, J. C., Martín, C., Magaña, M., Palacín, C., Alonso, J., Montesinos, A., & Luaces. I. (2002). *Postmortem* findings in wild great bustards (*Otis tarda*) from Spain: a clinical approach. *European Association of Zoo- and Wildlife Veterinarians (EAZWV) 4th scientific meeting*. Heidelberg, Germany: European Wildlife Disease Association (EWDA) annual meeting.
- Gardine, C. H., Payer, R., & Dubey, J.P. (1988). Apicomplexa – *Cryptosporidium*. In *An Atlas of Protozoan Parasites in Animal Tissues*. Agricultural Research Service. (pp. 36-39). USA: Department of Agriculture (USDA).

Graczyk, T. K., Majewska, A. C., & Schwab, K. J. (2007). The role of birds in dissemination of human waterborne enteropathogens. *Trends in Parasitology*, 24(2), 55-9. doi: 10.1016/j.pt.2007.10.007.

Greiner, E. C. (2008). *Isospora, Atoxoplasma, and Sarcocystis*. In C. T. Atkinson, N. J. Thomas & D. B. Hunter (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (pp. 108-119). Iowa: Wiley-Blackwell.

Greiner E. C., & Ritchie, B. W. (1994). Parasites. In B.W. Ritchie, G. J. Harrison & L. R. Harrison, *Avian Medicine: Principles and Application* (pp. 1008-1029). Lake Worth, Florida: Wingers Publishing.

Halajian, A., Kinsella, J. M., Mortazavi, P., & Abedi, M. (2013). The first report of morbidity and mortality in golden pheasant, *Chrysolophus pictus*, due to a mixed infection of *Heterakis gallinarum* and *H. isolonche* in Iran. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 37, 611-614. doi:10.3906/vet-1206-3.

Harrington, B. (2007). *Conserving shorebirds on department of defense lands*. Washington, D.C.: Department of Defense Legacy Resource Management Program. Acedido a Abr. 30, 2014, disponível em <http://www.dtic.mil/docs/citations/ADA541484>

Hauptmanová, K., Benedikt, V., & Literák, I. (2006). Blood parasites in passerine birds in slovakian east Carpathians. *Acta Protozoologica*, 45, 105-109.

Hijjawi, N. S., Meloni, B. P., Ng'anzo, M., Ryan, U. M., Olson, M. E., Cox, P. T., Monis, P. T., & Thompson, R. C. A. (2004). Complete development of *Cryptosporidium parvum* in host cell-free culture. *International Journal for Parasitology*, 34, 769-777. doi: 10.1016/j.ijpara.2004.04.001.

Hoque, M. A., Hassan, M. M., Haque, E., Shaikat, A. H., Khan, S. A., Skerratt, L. F., . . . Yamage, M. (2014). A survey of gastro-intestinal parasitic infection in domestic and wild birds in Chittagong and Greater Sylhet, Bangladesh. *Preventive Veterinary Medicine*, 117(1), 305-312. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.07.012.

Howlett, J. C. (2000). Clinical and diagnostic procedures. In J. Samour (Ed.), *Avian Medicine* (pp. 28-79). St. Louis, Missouri: Mosby.

Hudson, P. J. P. (1998). The consequences of parasite induced effects on the population dynamics of birds. In G. Valkiūnas, & H. Fagerholm (Eds.). *Proceedings of the symposium on Ecology of Bird-Parasite Interactions, Vilnius, Lithuania, 25 - 28 June, 1998, Bulletin of the Scandinavian Society for Parasitology*, 8 (2), 18-22.

Illescas Gomez, M. P., Rodriguez, M. O., & Maza, F. A. (1993). Parasitation of Falconiform, Strigiform and Passeriform (Corvidae) birds by helminths in Spain. *Research and Reviews in Parasitology*, 53(3-4), 129-135.

Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade [ICMCB]. (2008). *Plano de ação nacional para a conservação das aves de rapina*. Brasília. Acedido a Mai. 3, 2013, disponível em <http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/docs-plano-de-acao/panaverapina.pdf>

Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas [ICNF]. (2014). Programa nacional de monitorização de aves aquáticas invernantes. Acedido a Mai. 2, 2014, disponível em <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/ei/cepa/pp-monit/pnmaai>

Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas [ICNF]. (2000). *Falco naumanni*. Plano Sectorial da Rede Natura. Acedido a Mai. 20, 2017, disponível em: <http://www.icnf.pt/portal/naturaclas/rn2000/resource/docs/rn-plan-set/Aves/falco-naumanni>

Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas [ICNF]. (2002). *Aves aquáticas da reserva natural do sapal de Castro Marim e Vila Real de Santo António*. Castro Marim.

Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas [ICNF]. (2005). *Livro Vermelho dos Vertebrados de Portugal*. Acedido a Mai. 3, 2017, disponível em <http://www.icnf.pt/portal/pn/biodiversidade/patrinatur/lvv/resource/doc/tab-class-spp/Aves>

Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas [ICNF]. (2007). *Revisão do plano de ordenamento do Parque Natural da Ria Formosa - Volume 3 (Fauna)* (pp. 1–124). Olhão. Acedido a Mai. 15, 2014, disponível em <http://www.icnf.pt/portal/pn/biodiversidade/ordgest/poap/popnrf/popnrf-doc>

Junquera, P. (2015). *Capillaria* spp., parasitic roundworms of poultry - chicken, turkey, geese, etc. Biology, prevention and control. *Capillaria annulata*, *Capillaria contorta*, *Capillaria bursata*, capillariasis. Parasites of Dogs, Cats, Horses & Livestock: Biology & Control. Acedido a Out. 10, 2016, disponível em http://parasitipedia.net/index.php?option=com_content&view=article&id=2649&Itemid=2938

Kamatchi, P.A.C., Arivoli S., & Maheswaran, R. (2015). Biological control of mosquito larvae of *Culex quinquefasciatus* say using freshwater fish *Carassius auratus* linn and *Poecilia reticulata* Peters. *Research & Reviews: Journal of Zoological Sciences*, 3(1).

Karanis, P., & Aldeyarbi, H. M. (2011). Evolution of *Cryptosporidium* in vitro culture. *International Journal for Parasitology*, 41, 1231–1242. doi:10.1016/j.ijpara.2011.08.001.

Kinsella, J. M., Hon, L. T., Reed, P. B., & Jr. (1973). A comparison of the helminth parasites of the common gallinule (*Gallinula chloropus cachinnans*) and the purple gallinule (*Porphyryla martinica*) in Florida. *American Midland Naturalist*, 89(2), 467-473. doi: 10.2307/2424053.

Kirshner, D., & Forshaw, J. (1995). *Enciclopédia de Animais: Aves*. Lisboa: Círculo de Leitores.

Koprivnikar, J., & Leung, T. L. F. (2014). Flying with diverse passengers: great richness of parasitic nematodes in migratory birds. *Oikos*, 124(4), 399–405. doi: 10.1111/oik.01799.

Koudela, B., Modrý, B., Volf, J., & Slapeta, R. (2000). SCID mice as a tool for evaluation of heteroxenous life cycle pattern of *Caryospora* (Apicomplexa, Eimeriidae) species. *Veterinary Parasitology*, 92, 191–198.

- Krautwald-Junghanns, M. (2007). Aids to diagnosis. In B.H. Coles (Ed.), *Essentials of Avian Medicine and Surgery* (3rd Ed., pp. 56-102).
- Krone, O. (2000). Endoparasites in free-ranging birds of prey in Germany. In J.T. Lumeij, J.D. Remple, P.T. Redig, M. Lierz & J.E. Cooper (Eds.), *Raptor Biomedicine III* (pp. 101-116). Florida, USA: Zoological Education Network. Acedido a Mai. 24, 2017, disponível em https://www.researchgate.net/profile/Oliver_Krone/publication/282365514_Endoparasites_in_free-ranging_birds_of_prey_in_Germany/links/560eb1c308ae0fc513ee3c79.pdf
- Krone, O. (2002). Fatal *Caryospora* infection in a free-living juvenile Eurasian kestrel (*Falco tinnunculus*). *Journal of Raptor Research*, 36(1), 84–86.
- Krone, O. (2007). Pathology: Endoparasites. In D.M. Bird & K.L. Bildstein, *Raptor Research and Management Techniques* (pp. 318–328). Washington, D.C.: Raptor Research Foundation.
- Krone, O., & Cooper, J. E. (2002). Parasitic diseases. In J. E. Cooper (Ed.), *Birds of Prey: Health & Disease* (3rd Ed., pp. 105–120). Oxford, UK: Blackwell Science.
- Krone, O., Priemer, J., Streich, J., Sömmer, P., Langgermach, T., & Lessow, O. (2001). Haemosporida of birds of prey and owls from Germany. *Acta Protozoologica*. 40(4), 281–289.
- Krone, O., Waldenström, J., Valkiūnas, G., Lessow, O., Müller, K., Iezhova, T. A., Fickel, J., & Bensch, S. (2008). Haemosporidian blood parasites in european birds of prey and owls. *Journal of Parasitology*, 4(3), 709-715. doi: 10.1645/GE-1357.1.
- Kuklin, V. V., Galkin, A. K., Marasaev, S. F., & Marasaeva, E. F. (2003). The characteristics of the helminthofauna of sea birds of the Svalbard archipelago. *Doklady Biological Sciences*, 395(1-6), 124–126.
- Lacasse, C. (2015). Falconiformes. In R. E. Miller & M. E. Fowler (Eds.), *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine*, Vol. 8 (pp. 127-141). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Lebedeva, D. I., Yakovleva, G. A., & Ieshko, E. P. (2015). Nematodes in the mallard (*Anas platyrhynchos* Linnaeus, 1758) and the common goldeneye (*Bucephala clangula* Linnaeus, 1758) (Anatidae) from northern Europe. *Parasitology Research*, 114(10), 3935-3937. doi: 10.1007/s00436-015-4697-3.
- Leung, T. L. F., & Koprivnikar, J. (2016). Nematode parasite diversity in birds: the role of host ecology, life history and migration. *Journal of Animal Ecology*, 85(6), 1471-1480. doi: 10.1111/1365-2656.12581.
- Lindsay, D. S., & Blagburn, B. L. (2008). *Cryptosporidium*. In C. T. Atkinson, N. J. Thomas & D. B. Hunter (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (pp. 195-203). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Lindsay, D. S., & Todd, K. S. (1993). *Caryospora*: unusual coccidians. In J. P. Kreier (Ed.), *Parasitic Protozoa* (2nd Ed., Vol.4) (pp. 116-120). Acedido a Nov. 17, 2016, disponível em <https://books.google.pt/books?id=hcHzjihiz7G0C&pg=PA89&lpg=PA89&dq=caryospora#v=onepage&q=caryospora&f=false>

Liu, G., Shao, R., Li, J., Zhoul, D., Li, H., & Zhu, X. (2013). The complete mitochondrial genomes of three parasitic nematodes of birds: a unique gene order and insights into nematode phylogeny. *BMC Genomics*, 14(1), 13.

López, G., Figuerola, J., & Soriguer, R. (2006). Time of the day, age and feeding habits influence coccidian oocyst shedding in wild passerines. *International Journal for Parasitology*, 37(5) 559–564.

MacLean, R. A., & Beaufrère, H. (2015). Gruiformes (cranes, limpkins, rails, gallinules, coots, bustards). In R. E. Miller & M. E. Fowler (Eds.), *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine*, Vol. 8 (pp. 155-164). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.

Magalhães, N. S. T., Gonçalves, A. I. R., Afonso-Roque, M. M., & Madeira de Carvalho, L. M. (1998). Contribuição para o estudo da helmintofauna das aves de rapina de centros de recuperação em Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 5(2), 77-83.

Majewska, A. C., Graczyk, T. K., Slodkiewicz-Kowalska, A., Tamang, L., Jedrzejewski, S., Zduniak, P., . . . Nowosad, P. (2008). The role of free-ranging, captive, and domestic birds of western poland in environmental contamination with *Cryptosporidium parvum* oocysts and *Giardia lamblia* cysts. *Parasitology Research*, 104(5), 1093-1099. doi: 10.1007/s00436-008-1293-9.

Marques, A. T. (2012). *Alguns Segredos das Aves Estepárias*. Bio3. Acedido a Mai. 3, 2014, disponível em www.bio3.pt/press-e-media/noticias/Alguns-segredos-das-Aves-esteparias/102

Martínez de la Puente, J. (2010). *Interrelaciones entre hospedadores, vectores y parásitos sanguíneos en poblaciones de aves silvestres*. Dissertação de Doutoramento em Microbiologia. Madrid: Facultad de Ciencias Biológicas - Universidad Complutense de Madrid.

Martínez, J.E., & Calvo, J.F. (2006). *Rapaces diurnas e nocturnas de la Región de Murcia*. Región de Murcia: Dirección General del Medio Natural.

Martínez, F., Hernandez, S., Calero, R., Becerra, C., Moreno, T., Dominguez de Tena, M., & Acosta, M. I. (1977). Parasitos de aves Passeriformes en la provincia de Cordoba. *Revista Ibérica de Parasitologia*, 37(1-2), 133-141.

Martinho, F., & Melo, P. C. (2006). Parasitas detectados em aves silvestres admitidas num centro de recuperação. *Airo*, 16, 75-79.

Marzal, A. (2012). Recent advances in studies on avian malaria parasites. In O. Okwa (Ed.), *Malaria Parasites* (pp. 135-158). Acedido a Nov. 7, 2016, disponível em http://cdn.intechopen.com/pdfs/34362/InTech-Recent_advances_in_studies_on_avian_malaria_parasites.pdf

Marzal, A., Reviriego, M. I., Navarro, C., Díaz, S., De Lope, F., & Møller, A. P. (2005). Ecological interactions among protozoan parasites and their avian hosts: an approach. In A. Mendez-Vilas (Ed.), *Modern Multidisciplinary Applied Microbiology: Exploiting Microbes and Their Interactions* (pp. 60-63). Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.

Mata, V. C. A. (2012). *A comparison of avian haemosporidian parasite communities across the strait of Gibraltar*. Dissertação de Mestrado em Biodiversidade, Genética e Evolução. Porto: Centro de Investigação em Biodiversidade e Recursos Genéticos (CIBIO) - Faculdade de Ciências da Universidade do Porto.

McLaughlin, J. D. (2008). Cestodes. In C. T. Atkinson, N. J. Thomas & D. B. Hunter (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (pp. 261-276). Iowa: Wiley-Blackwell.

Meirinho, A.I.G. (2009). *Distribuição de Alcatraz (Morus bassanus) na costa continental portuguesa e sua relação com variáveis ambientais*. Dissertação de Mestrado em Ecologia, Gestão e Modelação dos Recursos Marinhos. Lisboa: Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.

Mihalca, A. D. (2013). *Textbook of veterinary parasitology: Introduction to parasitology. Protozoology*. Cluj-Napoca, Romania: AcademicPres.

Millán, J. (2009). Diseases of the red-legged partridge (*Alectoris rufa*): a review. *Wildlife Biology in Practice*, 5(1), 70-88. doi: 10.2461/wbp.2009.5.2.

Modrý, D., Hofmannová, L., Mihalca, A. D., Juránková, J., Neumayerová, H., & D'Amico, G. (n.d.). Blood and blood samples. In *Field and Laboratory Diagnostics of Parasitic Diseases of Domestic Animals: from Sampling to Diagnosis* (pp. 20-30). Czech Republic.

Modrý, D., Šlapeta, J. R., & Koudela, B. (2005). Mice serve as paratenic hosts for the transmission of *Caryospora duszynskii* (Apicomplexa: Eimeriidae) between snakes of the genus *Elaphe*. *Folia Parasitologica*, 52(3), 205-208.

Mohammad, M. K., Al-Moussawi, A. A., & Jasim, M. K. (2002). The parasitic fauna of the moorhen *Gallinula chloropus chloropus* L. in the middle of Iraq. *Bulletin of Iraq Natural History Museum*, 9 (4), 41-49.

Molina-López, R. A., Ramis, A., Martín-Vázquez, S., Gómez-Couso, H., Ares-Mazás, E., Cacciò, S. M., Leiva, M., & Darwich, L. (2010). *Cryptosporidium baileyi* infection associated, with an outbreak of ocular and respiratory disease in otus owls (*Otus scops*) in a rehabilitation centre. *Avian Pathology*, 39(3), 171-176. doi: 10.1080/03079451003717589.

Møller A. P., Merino, S., Soler, J. J., Antonov, A., Badás, E. P., Calero-Torralbo, M. A. . . . Ziane, N. (2013). Assessing the effects of climate on host-parasite interactions: a comparative study of European birds and their parasites. *PLoS One*, 8(12): e82886.

Monis, P. T., Caccio, S. M., & Thompson, R. C. A. (2009). Variation in *Giardia*: Towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in Parasitology*, 25(2), 93-100.

Moravec, F., & Scholz, T. (2016). Helminth parasites of the lesser great cormorant *Phalacrocorax carbo sinensis* from two nesting regions in the Czech Republic. *Folia Parasitologica*, 63: 022. doi: 10.14411/fp.2016.022.

Muller, M. G. (2010). Common avian parasites and emerging diseases. In G. LaMann (Ed.), *Veterinary Parasitology* (pp. 87-110). New York, USA: Nova Biomedical Press, Inc.

Nakamura, A. A., & Meireles, M. V. (2015). *Cryptosporidium* infections in birds - a review. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 24(3), 253-267. doi: 10.1590/S1984-29612015063.

Nijboer, J., & Lightfoot, T. L. (2011). Nutrition in passerines. In *Merck Veterinary Manual*. Acedido a Mai. 5, 2014, disponível em http://www.merckmanuals.com/vet/management_and_nutrition/nutrition_exotic_and_zoo_animals/nutrition_in_passerines.html

Okulewicz, A. (2013). New records of nematodes of passerine migratory birds. *Annals of Parasitology*, 59(3), 135–138.

Okulewicz, A., & Sitko, J. (2012). Parasitic helminthes – probable cause of death of birds. *Helminthologia*, 49(4), 241–246.

Owen, M., & Black, J. M. (1990). *Waterfowl ecology*. New York, USA: Blackie.

Panayotova-Pencheva, M. S. (2013). Parasites in captive animals: A review of studies in some european zoos. *Der Zoologische Garten*, 82(1-2), 60-71.

Papazahariadou, M., Diakou, A., Papadopoulos, E., Georgopouloub, J., Komnenou, A., & Antoniadou-Sotiriadou, K. (2008). Parasites of the digestive tract in free-ranging birds in Greece. *Journal of Natural History*, 42(5–8), 381–398.

Papini, R., Girivetto, M., Marangi, M., Mancianti, F., & Giangaspero, A. (2011). Endoparasite infections in pet and zoo birds in Italy. *The Scientific World Journal*, 2012(4): 253127. doi: 10.1100/2012/253127.

Park, S., & Shin, S. (2010). Concurrent *Capillaria* and *Heterakis* infections in zoo rock partridges, *Alectoris graeca*. *The Korean Journal of Parasitology*, 48(3), 253-257. doi: 10.3347/kjp.2010.48.3.253.

Patton, S. (2016). Overview of giardiasis (giardosis, lambliasis, lambliosis). In *Merck Veterinary Manual*. Acedido a Jun. 10, 2016, disponível em http://www.merckvetmanual.com/mvm/digestive_system/giardiasis/overview_of_giardiasis.html

Perec-Matysiak, A., Buńkowska-Gawlik, K., Zaleśny, G., & Hildebrand, J. (2015). Small rodents as reservoirs of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in south-western Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22(1), 1-5. doi: 10.5604/12321966.1141359.

Pérez-Granados, C. (2010). Diet of adult lesser kestrels *Falco naumanni* during the breeding season in central Spain. *International Journal of Ornithology*, 57(2), 443-448.

Pietersen, D. W., & Symes, C. T. (2009). Assessing the diet of amur falcon *Falco amurensis* and lesser kestrel *Falco naumanni* using stomach content analysis. *Journal of African Ornithology*, 84(1), 30-44.

- Pinto, R. M., Breber, B., Menezes, R. C., & Tortelly, R. (2008). Two cestode species in brazilian turkeys, *Meleagris gallopavo* (Galliformes, Phasianidae): Pathology induced by *Hymenolepis cantaniana* and occurrence of *Raillietina tetragona*. *Parasitologia Latinoamericana*, 63(1-4), 81-84.
- Plutzer, J., Ongerth, J., & Karanis, P. (2010). *Giardia* taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 213(5), 321–333. doi: 10.1016/j.ijheh.2010.06.005.
- Quillfeldt, P., Arriero, E., Martínez, J., Masello, J. F., & Merino, S. (2011). Prevalence of blood parasites in seabirds - a review. *Frontiers in Zoology*, 8, 26. doi: 10.1186/1742-9994-8-26.
- Ramesh, M. A., Malik, S., & Logsdon, J. M. (2005). A phylogenomic inventory of meiotic genes: Evidence for sex in *Giardia* and an early eukaryotic origin of meiosis. *Current Biology*, 15, 185–191. doi: 10.1016/j.cub.2005.01.003.
- Reboredo-Fernández, A., Ares-Mazás, E., Cacciò, S. M., & Gómez-Couso, H. (2015). Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in wild birds in Galicia (Northwest Spain). *Parasitology*, 142(7), 917-925. doi: 10.1017/S0031182015000049.
- Roa, M., & Alvarado, S. (2011). *Guía de aves rapaces: Características y atributos de las aves rapaces diurnas e nocturnas de Calera de Tango*. Municipipalidad de Calera de Tango.
- Rosales, M. J., Cordón, G. P., Moreno, M. S., Sánchez, C. M., & Mascaró, C. (2005). Extracellular like-gregarine stages of *Cryptosporidium parvum*. *Acta Tropica*, 95, 74–78.
- Ryan, U., Paparini, A., Monis, P., & Hijjawi, N. (2016). It's official – *Cryptosporidium* is a gregarine: What are the implications for the water industry? *Water Research*, 105, 305-313.
- Rzad, I., Sitko, J., Salamatin, R., & Wysocki, D. (2014). Helminth community structure study on urban and forest blackbird (*Turdus merula* L.) populations in relation to seasonal bird migration on the south Baltic sea coast (NW Poland). *Helminthologia*, 51(2), 117–129.
- Samour, J. (2006a). Diagnostic value of hematology. In G. J. Harrison & T. L. Lightfoot (Eds.), *Clinical Avian Medicine*, Vol. II (pp. 587-610). Florida: Spix Publishing, Inc.
- Samour, J. (2006b). Management of raptors. In G. J. Harrison & T. L. Lightfoot (Eds.), *Clinical Avian Medicine*, Vol. II (pp. 931-936).
- Sánchez-Andrade, R., Panadero, R., López, C., Lago, P., Paz, A., & Morrondo, P. (2002). Parasitic forms in faeces and aegagropies of diurnal and nocturnal birds of prey in Galicia. *Revista Ibérica de Parasitología*, 62(3-4), 89-92.
- Sanmartín, M. L., Álvarez, F. A., Barreiro, G., & Leiro, J. (2004). Helminth fauna of Falconiform and Strigiform birds of prey in Galicia, northwest Spain. *Parasitology Research*, 92, 255–263. doi: 10.1007/s00436-003-1042-z.
- Sanmartín, M. L., Cordeiro, J. A., Álvarez, M. F., & Leiro, J. (2005). Helminth fauna of the yellow-legged gull *Larus cachinnans* in Galicia, north-west Spain. *Journal of Helminthology*, 79(4), 361–371. doi: 10.1079/JOH2005309.

- Santiago-Alarcon, D., Palinauskas, V., & Schaefer, H. M. (2012). Diptera vectors of avian haemosporidian parasites: untangling parasite life cycles and their taxonomy. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 87(4), 928–964. doi: 10.1111/j.1469-185X.2012.00234.x.
- Santoro, M., Kinsella, J. M., Galiero, G., Uberti, B., & Aznar, F. J. (2012). Helminth community structure in birds of prey (Accipitriformes and Falconiformes) in southern Italy. *Journal of Parasitology*, 98(1), 22–29. doi: 10.1645/GE-2924.1.
- Santoro, M., Mattiucci, S., Kinsella, J. M., Aznar, F. J., Giordano, D., Castagna, F., Pellegrino, F., & Nascetti, G. (2011). Helminth community structure of the mediterranean gull (*Ichthyaeetus melanocephalus*) in southern Italy. *Journal of Parasitology*, 97(2), 364–366. doi: 10.1645/GE-2602.1.
- Santos, N. G., Pereira, M. C., Melo, P. M., & Madeira de Carvalho, L. M. (2008). Pesquisa de hemoprotozoários em aves de rapina (ordens Falconiformes e Strigiformes) em centros de recuperação em Portugal. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 103(567-568), 195–200.
- Schreiber, E.A., & Burger, J. (Eds.). (2001). Seabirds in the marine environment. *In Biology of Marine Birds*. (pp. 1-16). Boca Raton, Florida: CRC Press LLC.
- Sergeant, E.S.G. (2017). *Epitools epidemiological calculators*. Ausvet, Animal Health Services and Australian Biosecurity Cooperative Research Centre for Emerging Infectious Disease. Acedido a Fev. 6, 2017, disponível em <http://epitools.ausvet.com.au>
- Shealer, D. A. (2001). Foraging behavior and food of seabirds. *In* E. A. Schreiber & J. Burger (Eds.), *Biology of Marine Birds*. (pp. 137-178). Boca Raton, Florida: CRC Press LLC.
- Shuster, R. K., Woo, P. C. Y., Poon, R. W. S., Lau, S. K. P., Sivakumar, S., & Kinne, J. (2016). *Chlamydotis macqueenii* and *C.undulata* (Aves: Otidiidae) are new hosts for *Caryospora megafalconis* (Apicomplexa: Eimeriidae) and proposal of the genus *Avispora* gen. nov. *Parasitology Research*, 115(11), 4389-4395. doi: 10.1007/s00436-016-5224-x.
- Smith, J. A. (2015). Passeriformes (songbirds, perching birds). *In* R. E. Miller & M. E. Fowler (Eds.), *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine*, Vol. 8 (pp. 236-246). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Smith, H. V., & Nichols, R. A. B. (2007). *Cryptosporidium*. *In* S. Simjee (Ed.), *Infectious Disease: Foodborne Diseases* (pp. 233-276). Totowa, New Jersey: Humana Press Inc.
- Smith, H. V., & Paget, T. (2007). *Giardia*. *In* S. Simjee (Ed.), *Infectious Disease: Foodborne Diseases* (pp. 303-336). Totowa, New Jersey: Humana Press Inc.
- Snak, A., Lenzi, P. F., Agostini, K. M., Delgado, L. E., Montanucci, C. R., & Zabott, M. V. (2014). Análises coprológicas de aves silvestres cativas. *Ciência Animal Brasileira*, 15(4), 502-507. doi: 10.590/1089-6891v15i425797.

Sol, D., Jovani, R., & Torres, J. (2003). Parasite mediated mortality and host immune response explain age-related differences in blood parasitism in birds. *Oecologia*, 135(4), 542-547. doi: 10.1007/s00442-003-1223-6.

Solari, C.A.P. (2004). *Áreas marinas protegidas y su utilidad en la conservación de las aves marinas en Chile*. Seminario de título para optar al título de Biólogo con mención en Medio Ambiente. Chile: Universidad de Chile.

Stapf, A. N., Kavetska, M., Ptak, P. P., & Rząd, I. (2013). Morphometrical and ecological analysis of nematodes of the family Capillariidae (Neveu-Lemaire, 1936) in wild ducks (Anatinae) from the north-western Poland. *Annals of Parasitology*, 59(4), 195-20.

Sitko J., & Zaleśny, G. (2012). The effect of urbanization on helminth communities in the Eurasian blackbird (*Turdus merula* L.) from the eastern part of the Czech Republic. *Journal of Helminthology*, 88(1), 97–104. doi:10.1017/S0022149X12000818.

Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (Eds.). (2007a). Parasites of poultry and gamebirds: Endoparasites. In *Veterinary Parasitology* (3rd Ed., pp. 1086-1291). Oxford, UK: Blackwell Publishing.

Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (Eds.). (2007b). Parasite taxonomy and morphology: Helminthology. In *Veterinary Parasitology* (3rd Ed., pp. 33-70). Oxford, UK: Blackwell Publishing.

Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (Eds.). (2007c). Parasite taxonomy and morphology: Protozoology. In *Veterinary Parasitology* (3rd Ed., pp. 128-155). Oxford, UK: Blackwell Publishing.

Teixeira, M., Monteiro, J. P., Catenacci, L. S., Rodrigues, M. L. A., & Sato, M. C. B. (2012). Ascariasis in peafowl *Pavo cristatus* (Phasianidae) due to *Ascaridia galli* Schrank, 1788. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 43(3), 585–587.

Thompson, R. C. A., Koh, W. H., & Clode, P. L. (2016). *Cryptosporidium* – what is it?. *Food and Waterborne Parasitology*, 4, 54-61.

Thompson, R. C. A., & Monis, P. (2012). *Giardia* - from genome to proteome. In D. Rollinson & S. I. Hay (Eds.), *Advances in Parasitology*, Vol. 78 (pp. 57-95). Amsterdam, Netherlands: Academic Press.

Tomás, A. F. V. (2014). *Rastreio parasitológico em aves selvagens de zonas periurbanas do Litoral e Interior de Portugal*. Dissertação Mestrado em Biologia Humana e Ambiente. Lisboa: Faculdade de Ciências – Universidade de Lisboa.

Tomás, A. F. V., Rebelo, M. T., & Pereira da Fonseca, I. (2014). Pesquisa de hemoprotozoários em aves selvagens de Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 20 (1-2), 160-161.

Tomé, R., Santos, N., Cardia, P., Ferrand, N., & Korpimäki, E. (2005). Factors affecting the prevalence of blood parasites of little owls *Athene noctua* in Southern Portugal. *Ornis Fennica*, 82, 63–72.

Trocini, S., Pacioni, C., Warren, K., Butcher, J., & Robertson, I. (2008). Wildlife disease passive surveillance: The potential role of wildlife rehabilitation centres. *6th National Wildlife Rehabilitation Conference*. Camberra. Acedido a Jul. 24, 2017, disponível em http://www.awrc.org.au/uploads/5/8/6/6/5866843/trocini_surveillance.pdf

Unwin, M. (2011). Passerine: Perching birds. *The Atlas of Birds: Diversity, Behavior, and Conservation* (pp.60-61). Princeton, New Jersey: Princeton University Press. Acedido a Mai. 4, 2014, disponível em <http://press.princeton.edu/birds/unwin/passerine.html>

Upton, S. J., Current, W. L., & Barnard, S. M. (1986). A review of the genus *Caryospora* Leger, 1904 (Apicomplexa: Eimeriidae). *Systematic Parasitology*, 8, 3-21.

Universal Taxonomic Service. (2016). *Monotypic taxon: order cryptogregarida*. The Taxonomicon. Acedido a Out. 10, 2016, disponível em <http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx?src=0&id=4679231>

Valkiūnas, G. (2005). *Avian malaria parasites and other haemosporidia*. Boca Raton, Florida: CRC Press.

Ventim, R. (2011). *Haemosporidian parasites in communities of southwestern european reedbeds: their passerine hosts and their vectors*. Dissertação de Doutorado em Biologia, especialidade de Ecologia. Coimbra: Faculdade de Ciências e Tecnologia -Universidade de Coimbra.

Viana, M.S.S.B. (2010). *Características hematológicas e ocorrência de hemoparasitas em aves de rapina*. Dissertação de Mestrado em Sanidade Animal. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade de Lisboa.

Viana, L. A., Mecchi, K. C., Nascimento, L. F., Herrera, H. M., Santa-Rita, P. H., Miglionico, M. T. S., . . . Paiva, F. (2015). *Caryospora bigenetica* (Apicomplexa: Eimeriidae) in South America: new hosts and distribution records. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*, 24(1), 101-104. doi: 10.1590/S1984-29612015002.

Villanúa, D., Casas, F., Viñuela, J., Gortázar, C., García de la Morena, E., & Morales, E. (2006). First occurrence of *Eucoleus contortus* in a little bustard *Tetrax tetrax*: negative effect of red-legged partridge *Alectoris rufa* releases on steppe bird conservation? *International Journal of Avian Science*, 149(2), 405-406.

Volf, J., Modrý, D., & Koudela, B. (2001). Experimental transmission of *Caryospora kutzeri* (Apicomplexa: Eimeriidae) by rodent hosts. *Folia Parasitologica*, 48(1), 11-14.

Warnock, N., Elphick, C., & Rubega, M. A. (2001). Shorebirds in the marine environment. In E. A. Schreiber & J. Burger (Eds.), *Biology of Marine Birds*. (pp. 581-616). Boca Raton, Florida: CRC Press LLC.

Weller, M. W. (2003). *Wetland Birds*. Cambridge: Cambridge University Press.

Wobeser, G. A. (2008). Parasitism: costs and effects. In C. T. Atkinson, N. J. Thomas & D. B. Hunter (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (pp. 3-9). Iowa: Wiley-Blackwell.

- Xiao, L., & Cama, V. (2006). *Cryptosporidium* and cryptosporidiosis. In Y.R. Ortega (Ed.), *Foodborne Animal* (pp. 57-108). New York, USA: Springer.
- Yabsley, M. J. (2008a). Capillarid nematodes. In C. T. Atkinson, N. J. Thomas & D. B. Hunter (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (pp. 463-497). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Yabsley (2008b). *Eimeria*. In C. T. Atkinson, N. J. Thomas & D. B. Hunter (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (pp. 162-180). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Yang, R., Brice, B., & Ryan, U. (2014). A new *Caryospora* coccidian species (Apicomplexa: Eimeriidae) from the laughing kookaburra (*Dacelo novaeguineae*). *Experimental Parasitology*, 145, 68-73.
- Yazwinski, T. A., & Tucker, C. A. (2008). Internal parasites: Nematodes and acanthocephalans. In Y.M. Saif (Ed.), *Diseases of Poultry* (12th Ed., pp. 1025-1066). Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Zahedi, A., Paparini, A., Jian, F., Robertson, I., & Ryan, U. (2015). Public health significance of zoonotic *Cryptosporidium* species in wildlife: Critical insights into better drinking water management. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 5(1), 88-109.
- Zajac, A. M., Conboy, G. A., Greiner, E. C., Smith, S. A., & Snowden, K. F. (2012a). Fecal examination for the diagnosis of parasitism. In A. M. Zajac & G. A. Conboy (Eds.), *Veterinary Clinical Parasitology* (8th Ed., pp. 3-163). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Zajac, A. M., Conboy, G. A., Greiner, E. C., Smith, S. A., & Snowden, K. F. (2012b). Detection of parasites in the blood. In A. M. Zajac & G. A. Conboy (Eds.), *Veterinary Clinical Parasitology* (8th Ed., pp. 185-211). Iowa: Wiley-Blackwell.
- Zhu, G., Enomoto, S., Fritzler, J. M., Abrahamsen, M. S., & Templeton, T. J. (2009). *Cryptosporidium*. In N. Vishvanath, C. Kole (Eds.), *Genome Mapping and Genomics in Animal-Associated Microbes* (pp. 165-190). Berlin, Germany: Springer-Verlag.
- Zucca, P. (2000). Infectious diseases: Parasitic diseases. In J. Samour (Ed.), *Avian Medicine* (pp. 219-252). St. Louis, Missouri: Mosby.

Anexo I. Tabela referente aos dados obtidos durante a recolha e processamento das amostras

Nº Historial	Espécie	Nome comum	Grupo	Idade	Causa de Ingresso	Data Amostragem	Método Flutuação	Esfregaço Sangue	Esfregaço Fecal
V0117/12/A	<i>Strix aluco</i>	Coruja-do-mato	Rapina	Cria	Queda do ninho/Orfão	07/05/2012		1 x negativo	
V0133/12/A	<i>Turdus merula</i>	Melro-preto	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	07/05/2012	Capillaria / Cestodes		
V0162/12/A	<i>Turdus merula</i>	Melro-preto	Passeriforme	Cria	Trauma	07/05/2012	Cestodes		
V0161/12/A	<i>Passer domesticus</i>	Pardal-comum	Passeriforme	Adulto	Captura acidental	09/05/2012			1 x negativo
V0160/12/A	<i>Ciconia ciconia</i>	Cegonha-branca	Marinha	Indeterminado	Trauma	09/05/2012	1 x negativo	1 x negativo	
V0167/12/A	<i>Circus gallicus</i>	Águia-cobreira	Rapina	Adulto	Trauma	13/05/2012		1 x negativo	
V0169/12/A	<i>Morus bassanus</i>	Ganso-patola	Marinha	Adulto	Debilidade / Desnutrição	13/05/2012		1 x negativo	
V0171/12/A	<i>Garrulus glandarius</i>	Gaio-comum	Passeriforme	Adulto	Trauma	14/05/2012			1 x negativo
V0186/12/A	<i>Upupa epops</i>	Poupa	Bucerotiforme	Adulto	Trauma	14/05/2012	1 x negativo		
V0172/12/A	<i>Apus apus</i>	Andorinhão-preto	Passeriforme	Adulto	Debilidade / Desnutrição	16/05/2012	1 x negativo		
V0175/12/A	<i>Passer domesticus</i>	Pardal-comum	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	16/05/2012	1 x negativo		
V0176/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Cria	Queda do ninho/Orfão	16/05/2012			1 x negativo
V0176/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Cria	Queda do ninho/Orfão	22/05/2012	1 x negativo		
V0190/12/A	<i>Sturnus unicolor</i>	Estorninho-preto	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	22/05/2012	1 x negativo		
V0205/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas-amarelas	Marinha	Adulto	Debilidade / Desnutrição	23/05/2012	1 x negativo		
V0206/12/A	<i>Turdus merula</i>	Melro-preto	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	24/05/2012	1 x negativo		
V0207/12/A	<i>Turdus merula</i>	Melro-preto	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	24/05/2012	1 x negativo		
V0157/12/A	<i>Strix aluco</i>	Coruja-do-mato	Rapina	Adulto	Trauma	28/05/2012	1 x negativo		
V0261/12/A	<i>Bubulcus ibis</i>	Garça-boieira	Pelecaniforme	Adulto	Trauma	07/06/2012		1 x negativo	
V0204/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Adulto	Trauma	08/06/2012		1 x negativo	
V0252/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Juvenil	Desconhecida	08/06/2012		1 x negativo	
V0278/12/A	<i>Falco naumanni</i>	Peneireiro-das-torres	Estepária	Cria	Trauma	12/06/2012	Coccídias		
V0236/12/A	<i>Bubo bubo</i>	Bufo-real	Rapina	Adulto	Trauma	13/06/2012	1 x negativo		
V0274/12/A	<i>Gallinula chloropus</i>	Galinha-d'água	Aquática	Cria	Queda do ninho/Orfão	13/06/2012	Capillaria		
V0275/12/A	<i>Parus major</i>	Chapim-real	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	13/06/2012	1 x negativo		

Anexo I. (continuação)

V0276/12/A	<i>Parus major</i>	Chapim-real	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	13/06/2012	1 x negativo	
V0283/12/A	<i>Sturnos unicolor</i>	Estorninho-preto	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	13/06/2012	1 x negativo	
V0238/12/A	<i>Falco tinnunculus</i>	Peneireiro-comum	Rapina	Adulto	Cativeiro ilegal	14/06/2012		1 x negativo
V0272/12/A	<i>Falco tinnunculus</i>	Peneireiro-comum	Rapina	Adulto	Trauma	14/06/2012	1 x negativo	1 x negativo
V0273/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Cria	Trauma	14/06/2012		1 x negativo
V0248/12/A	<i>Ciconia ciconia</i>	Cegonha-branca	Marinha	Adulto	Trauma	14/06/2012	1 x negativo	
V0274/12/A	<i>Gallinula chloropus</i>	Galinha-d'água	Aquática	Cria	Queda do ninho/Orfão	14/06/2012		1 x negativo
V0205/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas-amarelas	Marinha	Adulto	Debilidade / Desnutrição	19/06/2012		1 x negativo
V0201/12/A	<i>Otis tarda</i>	Abetarda	Estepária	Cria	Trauma	19/06/2012	1 x negativo	1 x negativo
V0307/12/A	<i>Anas platyrhynchos</i>	Pato-real	Aquática	Indeterminado	Doença	20/06/2012		1 x negativo
V0292/12/A	<i>Tyto alba</i>	Coruja-das-torres	Rapina	Juvenil	Debilidade / Desnutrição	21/06/2012		1 x negativo
V0312/12/A	<i>Falco naumanni</i>	Peneireiro-das-torres	Estepária	Cria	Trauma	21/06/2012		1 x negativo
V0317/12/A	<i>Falco naumanni</i>	Peneireiro-das-torres	Estepária	Juvenil	Trauma	22/06/2012		1 x negativo
V0300/12/A	<i>Pica pica</i>	Pega-rabuda	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	22/06/2012	1 x negativo	1 x negativo
V0231/12/A	<i>Apus apus</i>	Andorinhão-preto	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	22/06/2012	1 x negativo	
V0302/12/A	<i>Pica pica</i>	Pega-rabuda	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	25/06/2012	1 x negativo	
V0339/12/A	<i>Tyto alba</i>	Coruja-das-torres	Rapina	Adulto	Trauma	27/06/2012		1 x negativo
V0354/12/A	<i>Falco naumanni</i>	Peneireiro-das-torres	Estepária	Cria	Queda do ninho/Orfão	28/06/2012	Coccídias	
V0359/12/A	<i>Falco naumanni</i>	Peneireiro-das-torres	Estepária	Cria	Queda do ninho/Orfão	28/06/2012	Coccídias	
V0367/12/A	<i>Falco naumanni</i>	Peneireiro-das-torres	Estepária	Cria	Queda do ninho/Orfão	29/06/2012	1 x negativo	
V0370/12/A	<i>Falco naumanni</i>	Peneireiro-das-torres	Estepária	Cria	Queda do ninho/Orfão	29/06/2012	Coccídias	
V0435/12/A	<i>Buteo buteo</i>	Águia-d'asa-redonda	Rapina	Indeterminado	Trauma	30/06/2012		Haemoproteus
V0360/12/A	<i>Falco naumanni</i>	Peneireiro-das-torres	Estepária	Cria	Queda do ninho/Orfão	03/07/2012		1 x negativo
V0301/12/A	<i>Pica pica</i>	Pega-rabuda	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	03/07/2012	1 x negativo	1 x negativo
V0445/12/A	<i>Egretta garzetta</i>	Garça-branca-pequena	Marinha	Adulto	Debilidade / Desnutrição	03/07/2012		1 x negativo
V0314/12/A	<i>Ciconia ciconia</i>	Cegonha-branca	Marinha	Juvenil	Queda do ninho/Orfão	04/07/2012	1 x negativo	1 x negativo
V0456/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Indeterminado	Trauma	04/07/2012		Leucocytozoon / Haemoproteus

Anexo I. (continuação)

V0492/12/A	<i>Ciconia ciconia</i>	Cegonha-branca	Marinha	Cria	Queda do ninho/Orfão	10/07/2012	1 x negativo		
V0494/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas-amarelas	Marinha	Cria	Queda do ninho/Orfão	12/07/2012	1 x negativo		
V0523/12/A	<i>Buteo buteo</i>	Águia-d'asa-redonda	Rapina	Juvenil	Cativeiro ilegal	17/07/2012		1 x negativo	1 x negativo
V0524/12/A	<i>Buteo buteo</i>	Águia-d'asa-redonda	Rapina	Juvenil	Cativeiro ilegal	17/07/2012		1 x negativo	
V0525/12/A	<i>Tyto alba</i>	Coruja-das-torres	Rapina	Indeterminado	Trauma	17/07/2012			1 x negativo
V0505/12/A	<i>Delichon urbicum</i>	Andorinha-dos-beirais	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	19/07/2012	1 x negativo		
V0544/12/A	<i>Apus pallidus</i>	Andorinhão-pálido	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	20/07/2012	1 x negativo		
V0473/12/A	<i>Strix aluco</i>	Coruja-do-mato	Rapina	Indeterminado	Trauma	24/07/2012			1 x negativo
V0535/12/A	<i>Tyto alba</i>	Coruja-das-torres	Rapina	Cria	Cativeiro ilegal	24/07/2012	Capillaria		1 x negativo
V0536/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Adulto	Trauma	24/07/2012			1 x negativo
V0533/12/A	<i>Tyto alba</i>	Coruja-das-torres	Rapina	Cria	Cativeiro ilegal	24/07/2012			1 x negativo
V0541/12/A	<i>Asio otus</i>	Bufo-pequeno	Rapina	Adulto	Trauma	24/07/2012	Ovos ácaro		1 x negativo
V0561/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Juvenil	Doença	26/07/2012	Capillaria	Leucocytozoon	Cryptosporidium
V0563/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Juvenil	Doença	26/07/2012		Plasmodium	
V0573/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Adulto	Trauma	27/07/2012	1 x negativo		1 x negativo
V0568/12/A	<i>Oriolus oriolus</i>	Papa-figos	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	27/07/2012	1 x negativo		
V0652/12/A	<i>Anas platyrhynchos</i>	Pato-real	Aquática	Adulto	Doença	07/08/2012	Capillaria / Ascarídeos		
V0576/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas-amarelas	Marinha	Adulto	Trauma	07/08/2012			1 x negativo
V0674/12/A	<i>Streptopelia turtur</i>	Rola-brava	Columbiforme	Cria	Desconhecida	08/08/2012	1 x negativo	1 x negativo	
V0668/12/A	<i>Delichon urbicum</i>	Andorinha-dos-beirais	Passeriforme	Cria	Queda do ninho/Orfão	08/08/2012			1 x negativo
V0569/12/A	<i>Anas platyrhynchos</i>	Pato-real	Aquática	Cria	Queda do ninho/Orfão	14/08/2012	Capillaria		
V0628/12/A	<i>Circaetus gallicus</i>	Águia-cobreira	Rapina	Adulto	Trauma	14/08/2012	1 x negativo		
V0685/12/A	<i>Bubo bubo</i>	Bufo-real	Rapina	Adulto	Trauma	14/08/2012		Leucocytozoon / Haemoproteus	
V0248/12/A	<i>Ciconia ciconia</i>	Cegonha-branca	Marinha	Adulto	Trauma	16/08/2012		1 x negativo	
V0601/12/A	<i>Milvus migrans</i>	Milhafre-preto	Rapina	Adulto	Trauma	16/08/2012	1 x negativo		1 x negativo
V0487/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Indeterminado	Trauma	16/08/2012	Capillaria	1 x negativo	

Anexo I. (continuação)

V0689/12/A	<i>Fulica atra</i>	Galeirão-comum	Aquática	Adulto	Doença	17/08/2012	1 x negativo	
V0674/12/A	<i>Streptopelia turtur</i>	Rola-brava	Columbiforme	Cria	Desconhecida	17/08/2012		Giardia
V0488/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas-amarelas	Marinha	Adulto	Doença	17/08/2012		1 x negativo
V0692/12/A	<i>Anas strepera</i>	Frisada	Aquática	Adulto	Doença	20/08/2012	1 x negativo	
V0733/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas-amarelas	Marinha	Adulto	Doença	20/08/2012	1 x negativo	
V0747/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas-amarelas	Marinha	Juvenil	Doença	21/08/2012	1 x negativo	
V0734/12/A	<i>Caprimulgus ruficollis</i>	Noitibó-de-nuca-vermelha	Caprimulgiforme	Adulto	Trauma	21/08/2012	1 x negativo	
V0565/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Adulto	Trauma	22/08/2012		1 x negativo
V0473/12/A	<i>Strix aluco</i>	Coruja-do-mato	Rapina	Indeterminado	Trauma	22/08/2012		Leucocytozoon
V0771/12/A	<i>Anas platyrhynchos</i>	Pato-real	Aquática	Indeterminado	Doença	24/08/2012	1 x negativo	
V0851/12/A	<i>Calidris alpina</i>	Pilrito-comum	Marinha	Juvenil	Debilidade / Desnutrição	28/08/2012	1 x negativo	
V0868/12/A	<i>Pandion haliaetus</i>	Águia-pesqueira	Rapina	Juvenil	Debilidade / Desnutrição	28/08/2012	1 x negativo	
V0925/12/A	<i>Bubo bubo</i>	Bufo-real	Rapina	Adulto	Trauma	06/09/2012		Leucocytozoon / Haemoproteus 1 x negativo
V0926/12/A	<i>Gyps fulvus</i>	Grifo	Rapina	Adulto	Debilidade / Desnutrição	06/09/2012		1 x negativo
V0679/12/A	<i>Strix aluco</i>	Coruja-do-mato	Rapina	Adulto	Trauma	07/09/2012		1 x negativo
V0868/12/A	<i>Pandion haliaetus</i>	Águia-pesqueira	Rapina	Juvenil	Debilidade / Desnutrição	10/09/2012	1 x negativo	
V0945/12/A	<i>Milvus migrans</i>	Milhafre-preto	Rapina	Indeterminado	Trauma	11/09/2012	1 x negativo	1 x negativo
V0924/12/A	<i>Aquila pennata</i>	Águia-calçada	Rapina	Adulto	Trauma	11/09/2012	Ovos ácaro	1 x negativo
V0924/12/A	<i>Aquila pennata</i>	Águia-calçada	Rapina	Adulto	Trauma	13/09/2012	1 x negativo	
V0945/12/A	<i>Milvus migrans</i>	Milhafre-preto	Rapina	Indeterminado	Trauma	13/09/2012	Ovos ácaro	
V0968/12/A	<i>Fulica atra</i>	Galeirão-comum	Aquática	Indeterminado	Doença	13/09/2012	1 x negativo	
V0977/12/A	<i>Larus fuscus</i>	Gaivota-d'asa-escura	Marinha	Indeterminado	Doença	13/09/2012	Capillaria	
V0933/12/A	<i>Bubulcus ibis</i>	Garça-boieira	Pelecaniforme	Indeterminado	Trauma	13/09/2012	1 x negativo	
V0724/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Adulto	Cativeiro ilegal	17/09/2012	1 x negativo	1 x negativo
V1008/12/A	<i>Buteo buteo</i>	Águia-d'asa-redonda	Rapina	Indeterminado	Trauma	19/09/2012	Ovos ácaro	1 x negativo
V0986/12/A	<i>Numenius phaeopus</i>	Maçarico-galego	Marinha	Indeterminado	Trauma	19/09/2012	1 x negativo	1 x negativo

Anexo I. (continuação)

V0724/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Adulto	Cativeiro ilegal	19/09/2012	Capillaria / Coccídias / Ovos ácaro		
V0995/12/A	<i>Tyto alba</i>	Coruja-das-torres	Rapina	Adulto	Captura accidental	20/09/2012		Haemoproteus	1 x negativo
V1035/12/A	<i>Larus fuscus</i>	Gaivota-d'asa-escura	Marinha	Adulto	Debilidade / Desnutrição	21/09/2012		1 x negativo	1 x negativo
V1033/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Indeterminado	Desconhecida	21/09/2012		1 x negativo	
V1034/12/A	<i>Aythya ferina</i>	Zarro-comum	Aquática	Indeterminado	Doença	21/09/2012	1 x negativo		
V0571/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Adulto	Doença	25/09/2012	Coccídias		1 x negativo
V0553/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Indeterminado	Trauma	25/09/2012			1 x negativo
V1060/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Adulto	Trauma	25/09/2012	1 x negativo	Leucocytozoon / Haemoproteus	1 x negativo
V1066/12/A	<i>Circus gallicus</i>	Águia-cobreira	Rapina	Adulto	Trauma	27/09/2012		1 x negativo	1 x negativo
V1065/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Indeterminado	Doença	27/09/2012	Capillaria / Ovos ácaro		1 x negativo
V0960/12/A	<i>Tyto alba</i>	Coruja-das-torres	Rapina	Adulto	Trauma	27/09/2012	1 x negativo		1 x negativo
V1033/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Indeterminado	Desconhecida	02/10/2012			1 x negativo
V1009/12/A	<i>Larus ridibundus</i>	Guincho-comum	Marinha	Indeterminado	Doença	02/10/2012			1 x negativo
V0553/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Indeterminado	Trauma	03/10/2012	Capillaria / Coccídias		
V1074/12/A	<i>Bubulcus ibis</i>	Garça-boieira	Pelecaniforme	Indeterminado	Trauma	03/10/2012	1 x negativo		1 x negativo
V0981/12/A	<i>Aquila pennata</i>	Águia-calçada	Rapina	Adulto	Trauma	04/10/2012			1 x negativo
V1033/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Indeterminado	Desconhecida	04/10/2012	Coccídias		
V1095/12/A	<i>Larus fuscus</i>	Gaivota-d'asa-escura	Marinha	Indeterminado	Desconhecida	10/10/2012			
V1065/12/A	<i>Athene noctua</i>	Mocho-galego	Rapina	Indeterminado	Doença	11/10/2012		Leucocytozoon	
V0996/12/A	<i>Anas strepera</i>	Frisada	Aquática	Indeterminado	Doença	11/10/2012	1 x negativo		
V0545/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas amarelas	Marinha	Cria	Queda do ninho/Orfão	11/10/2012		Haemoproteus / Plasmodium	
V0271/12/A	<i>Corvus corone</i>	Gralha-preta	Passeriforme	Juvenil	Cativeiro ilegal	12/10/2012		1 x negativo	
V0484/12/A	<i>Buteo buteo</i>	Águia-d'asa-redonda	Rapina	Juvenil	Cativeiro ilegal	12/10/2012		1 x negativo	
V0601/12/A	<i>Milvus migrans</i>	Milhafre-preto	Rapina	Adulto	Trauma	12/10/2012		1 x negativo	
V1100/12/A	<i>Larus fuscus</i>	Gaivota-d'asa-escura	Marinha	Indeterminado	Doença	12/10/2012		1 x negativo	
V0997/12/A	<i>Anas strepera</i>	Frisada	Aquática	Indeterminado	Doença	16/10/2012	1 x negativo		
V0627/12/A	<i>Accipiter gentilis</i>	Açor	Rapina	Juvenil	Cativeiro ilegal	12/10/2012		1 x negativo	

Anexo I. (continuação)

V0338/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas-amarelas	Marinha	Cria	Queda do ninho/Orfão	12/10/2012	1 x negativo	
V0516/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas-amarelas	Marinha	Cria	Queda do ninho/Orfão	15/10/2012	1 x negativo	
V0341/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas-amarelas	Marinha	Cria	Queda do ninho/Orfão	15/10/2012	1 x negativo	
V0746/12/A	<i>Larus michahellis</i>	Gaivota-de-patas-amarelas	Marinha	Juvenil	Trauma	15/10/2012	1 x negativo	
V1105/12/A	<i>Larus fuscus</i>	Gaivota-d'asa-escura	Marinha	Indeterminado	Trauma	16/10/2012	1 x negativo	
V1007/12/A	<i>Fulica atra</i>	Galeirão-comum	Aquática	Indeterminado	Doença	17/10/2012	1 x negativo	
V0861/12/A	<i>Anas strepera</i>	Frisada	Aquática	Indeterminado	Doença	15/10/2012	1 x negativo	
V0656/12/A	<i>Anas platyrhynchos</i>	Pato-real	Aquática	Adulto	Doença	15/10/2012	1 x negativo	
V0999/12/A	<i>Anas strepera</i>	Frisada	Aquática	Indeterminado	Doença	17/10/2012	1 x negativo	
V1112/12/A	<i>Asio flammeus</i>	Coruja-do-nabal	Rapina	Indeterminado	Trauma	17/10/2012	Leucocytozoon	1 x negativo
V1110/12/A	<i>Larus fuscus</i>	Gaivota-d'asa-escura	Marinha	Indeterminado	Doença	19/10/2012	1 x negativo	
V1115/12/A	<i>Gyps fulvus</i>	Grifo	Rapina	Adulto	Debilidade / Desnutrição	23/10/2012	1 x negativo	
V1114/12/A	<i>Gyps fulvus</i>	Grifo	Rapina	Adulto	Debilidade / Desnutrição	23/10/2012	1 x negativo	
V1126/12/A	<i>Larus fuscus</i>	Gaivota-d'asa-escura	Marinha	Indeterminado	Desconhecida	24/10/2012	1 x negativo	
V1140/12/A	<i>Gyps fulvus</i>	Grifo	Rapina	Adulto	Debilidade / Desnutrição	29/10/2012	1 x negativo	
V1139/12/A	<i>Larus fuscus</i>	Gaivota-d'asa-escura	Marinha	Indeterminado	Doença	31/10/2012	1 x negativo	

Nota: Os grupos Bucerotiforme, Caprimulgiforme, Columbiforme e Pelecaniforme constituem o grupo “Outras” na análise estatística.

Anexo II. Protocolo de coloração Wright-Giemsa modificado por Samour (2006a)

- 1º- Colocar os esfregaços secos num suporte sobre um recipiente;
- 2º- Cobrir os esfregaços com o corante Giemsa e deixar atuar por 3 minutos;
- 3º- Adicionar igual quantidade de solução tampão;
- 4º- Misturar cuidadosamente com uma pipeta até surgir um brilho verde metálico na superfície e deixar repousar por 6 minutos;
- 5º- Lavar com solução tampão e deixar atuar durante 1 minuto de forma a ocorrer a diferenciação;
- 6º- Lavar abundantemente com a solução tampão;
- 7º- Limpar a parte de trás do esfregaço com papel de maneira a remover o excesso de corante;
- 8º- Deixar no suporte até secar completamente.

Anexo III. Estatuto fenológico das aves em estudo, em Portugal Continental

Espécie	Estatuto fenológico
<i>Accipiter gentilis</i>	Residente
<i>Anas platyrhynchos</i>	Residente
<i>Anas strepera</i>	Residente
<i>Apus apus</i>	Migrador (Nidificante estival)
<i>Apus pallidus</i>	Migrador (Nidificante estival)
<i>Aquila pennata</i>	Migrador (Nidificante estival)
<i>Asio flammeus</i>	Migrador dispersivo; Invernante
<i>Asio otus</i>	Residente
<i>Athene noctua</i>	Residente
<i>Aythya ferina</i>	Residente
<i>Bubo bubo</i>	Residente
<i>Bubulcus ibis</i>	Residente
<i>Buteo buteo</i>	Residente; Invernante e Migrador de passagem
<i>Calidris alpina</i>	Migrador (Visitante)
<i>Caprimulgus ruficollis</i>	Migrador (Nidificante estival)
<i>Ciconia ciconia</i>	Residente e Nidificante estival
<i>Circaetus gallicus</i>	Migrador (Nidificante estival)
<i>Corvus corone</i>	Residente
<i>Delichon urbicum</i>	Migrador (Nidificante estival)
<i>Egretta garzetta</i>	Residente
<i>Falco naumanni</i>	Migrador (Nidificante estival)
<i>Falco tinnunculus</i>	Residente
<i>Fulica atra</i>	Residente
<i>Gallinula chloropus</i>	Residente
<i>Garrulus glandarius</i>	Residente
<i>Gyps fulvus</i>	Residente
<i>Larus fuscus</i>	Migrador (Reprodutor visitante)
<i>Larus michahellis</i>	Residente
<i>Larus ridibundus</i>	Migrador (Visitante)
<i>Milvus migrans</i>	Migrador (Nidificante estival)
<i>Morus bassanus</i>	Migrador (Visitante)
<i>Numenius phaeopus</i>	Migrador (Visitante)
<i>Oriolus oriolus</i>	Migrador (Nidificante estival)
<i>Otis tarda</i>	Residente
<i>Pandion haliaetus</i>	Residente
<i>Parus major</i>	Residente
<i>Passer domesticus</i>	Residente
<i>Pica pica</i>	Residente
<i>Streptopelia turtur</i>	Migrador (Nidificante estival)
<i>Strix aluco</i>	Residente
<i>Sturnus unicolor</i>	Residente
<i>Turdus merula</i>	Residente
<i>Tyto alba</i>	Residente
<i>Upupa epops</i>	Residente; Migrador (Nidificante estival)